ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE 1982 THESE N° 65

APPRECIATION DU RÔLE HEPATO. CANCEROGENE DU PHENOBARBITAL, DE L'AROCLOR 1254 ET DU DICHLORO DIPHENYL TRICHLORO ETHANE

(Etude effectuée chez le rat
à l'aide d'un test à moyen terme)

THESE

Pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'Etat)
présentée et soutenue publiquement en 1982
par

Jean-Marc, Noël GARBAY
né le 5 décembre 1956 à Narbonne (Aude)

MEMBRES DU JURY

Président : Monsieur le Professeur RIBET, Université Paul Sabatier de Toulouse
Assesseurs : Monsieur le Professeur VAN HAVERBEKE, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Monsieur le professeur CABANIE, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE 1982

THESE N° 65

APPRECIATION DU RÔLE HEPATO. CANCEROGENE DU PHENOBARBITAL, DE L'AROCLOR 1254 ET DU DICHLORO DIPHENYL TRICHLORO ETHANE

(Etude effectuée chez le rat
à l'aide d'un test à moyen terme)

THESE

Pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'Etat)
présentée et soutenue publiquement en 1982
par

Jean-Marc, Noël GARBAY
né le 5 décembre 1956 à Narbonne (Aude)

MEMBRES DU JURY

Président : Monsieur le Professeur RIBET, Université Paul Sabatier de Toulouse
Assesseurs : Monsieur le Professeur VAN HAVERBEKE, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Monsieur le professeur CABANIE, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

A mes Parents

A ma Famille

A mes Amis

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur ..... M. LAUTIE

Directeur honoraire ..... M. FLORIO

Professeurs honoraires ..... MM. BRIZARD

SAURAT

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. GODFRAIN
Professeur sans chaire ..... Mme BURGAT-SACAZ

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire ..... MM. RICO
Professeur sans chaire ..... BRAUN
Maître-Assistant ..... BENARD

Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale
Informatique biologique et médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire ..... MM. PAVAUX
Maître-Assistant ..... LIGNEREUX
Maître-Assistant ..... SAUTET

Organogénèse - Tératologie
Anatomie Générale - Anatomie appliquée

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE, PHARMACODYNAMIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire ..... MM. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire ..... FARGEAS
Maître-Assistant Agrégé ..... TOUTAIN

Physiologie - Pharmacodynamie -
Thérapeutique

.../

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire	MM.	CAZIEUX
Maître de Conférences		GENEVOIS
Maître Assistant		AUTEFAGE
Maître Assistant		FAYOLLE

Propédeutique et Sémiologie chirurgicale
Radiologie - Technique chirurgicale -
Anesthésiologie - Pathologie Chirurgicale
Traumatologie - Podologie orthopédique -
Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire	MM.	FERNEY
Professeur sans chaire		ROYAL

Pathologie de l'appareil génital et de la mamelle - Sémiologie et propédeutique -
Pathologie de la Reproduction -
Obstétrique et pathologie du nouveau-né
Clinique - Consultation itinérante

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES - LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire	MM.	CHANTAL
Maître Assistant		PICAVET

Epidémiologie - Maladies Contagieuses
Zoonoses - Législation sanitaire -
Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire	MM.	LAUTIE
Maître Assistant		PELLERIN
Maître Assistant		MILON

Microbiologie - Immunologie -
Pathologie Générale

CHAIRE D'ELEVAGE ET ECONOMIE

Professeur titulaire	MM.	QUEINNEC
Professeur sans chaire		DARRE
Maître Assistant	Mme	QUEINNEC

Ethnologie - Génétique animale -
Extérieur - Zootechnie et économie générales
Ethologie appliquée, Sciences, Techniques,
Economie de l' Elevage et des Productions animales - Insémination artificielle -
Organisation de l' Elevage

.../

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire	MM. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire	CABANIE
Maître Assistant Agrégé	MAGNOL

Histologie - Embryologie
Anatomie Pathologique - Clinique

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire	MM. LABIE
Maître de Conférences	EECKHOUTTE
Maître Assistant Agrégé	Mme BENARD

Hygiène, Inspection, Contrôle et
Technologie des denrées alimentaires
d'origine animale - Clinique

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire	MM. DORCHIES
Maître de Conférences	FRANC
Maître Assistant	DUCOS DE LAHITTE

Zoologie appliquée - Ecologie -
Parasitologie externe - Dermatologie
Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES EQUIDES ET CARNIVORES ET DE LEGISLATION

Professeur titulaire	MM. LESCURE
Maître de Conférences	GUELFI
Maître Assistant	REGNIER

Sémiologie et Pathologie Médicale des
Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie
Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire	MM. TOURNUT
Maître de Conférences	BEZILLE
Maître Assistant	JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie Médicale
du Bétail et des animaux de basse-cour
Clinique - Consultation itinérante

.../

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire	MM. FALIU
Professeur sans chaire	GRIESS
Maître Assistant	ENJALBERT

Botanique appliquée et bromatologie
Agronomie - Alimentation

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. les Professeurs ANGELIER, ARMENGAUD, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET et MAZENC.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinion émises par les candidats (délibération de la Faculté en date du 10 Mai 189 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 Juin 1924.

A Monsieur le Docteur G. MAZUE,

pour la confiance et l'intérêt qu'il m'a témoigné.

A Monsieur le Docteur G. M. WILLIAMS,

pour ses conseils et son expérience qui nous ont été très utiles pour la réalisation de ce travail.

A tous ceux du Centre de Recherches Clin-Midy de Montpellier qui m'ont permis de mener à bien ce travail et tout particulièrement

à Monsieur B. REMANDET pour ses précieux conseils et sa patience à les prodiguer,

à Monsieur H. LAINE pour sa contribution aux analyses statistiques.

A notre Président de thèse

Monsieur le Professeur RIBET
de l'Université Paul Sabatier de Toulouse

qui nous a fait l'honneur
d'accepter d'être le Président
de notre jury de thèse.

A notre jury de thèse

Monsieur le Professeur VAN HAVERBEKE
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

qui nous a guidés dans nos
études sans se décourager.

Monsieur le Professeur CABANIE
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

dont la bonne parole nous a
toujours été bénéfique.

PLAN

INTRODUCTION

1ÈRE PARTIE

RAPPELS GENERAUX CONCERNANT LES ETUDES DE CANCEROGENESE

I - PLACE DES ETUDES DE CANCEROGENESES EN TOXICOLOGIE

II - DEFINITIONS DES CANCEROGENES CHIMIQUES

III - PRINCIPES DE BASES ET LIMITES DES DIFFERENTS TYPES DE TESTS UTILISES EN CANCEROGENESE EXPERIMENTALE

1 - Tests à long terme

2 - Tests à court terme

3 - Tests à moyen terme

2ÈME PARTIE

PRESENTATION DU TEST A MOYEN TERME ETUDIE

I - LES ANIMAUX

1 - Caractéristiques

2 - Identification

3 - Entretien

. Alimentation

. Abreuvement

. Environnement

. Habitat

II - MODALITES DU TRAITEMENT

III - EXAMENS EFFECTUES

1 - Observations quotidiennes

. Evolution pondérale

. Examens sanguins

2 - Autopsie

3 - Etudes anatomo-pathologiques

4 - Etudes statistiques

3ÈME PARTIE

RESULTATS

I - RESULTATS ANATOMOPATHOLOGIQUES

A - CRITERES MORPHOLOGIQUES ET SIGNIFICATION DES DIFFERENTES LESIONS RENCONTREES

1 - Foyers d'altérations cellulaires

2 - Nodules néoplasiques

3 - Carcinomes (hépatocarcinomes et cholangiocarcinomes)

4 - Lésions associées

. Nodules régénératifs

. Ectasie capillaire

. Prolifération polykystique des canaux biliaires

. Adenome biliaire

. Cholangiofibrose

. Prolifération de cellules ovalaires

B - RESULTATS PROPREMENT DITS

1 - Evolution des lésions prénéoplasiques et néoplasiques jusqu'à 37 semaines

a) Evolution des foyers d'altérations cellulaires

b) Evolution des nodules

c) Evolution des carcinomes

2 - Evolution au-delà de 37 semaines

3 - Evolution des lésions associées

a) Ectasie capillaire

b) Prolifération polykystique des canaux biliaires et cholangiofibrose

c) Prolifération de cellules ovalaires

C - DISCUSSION DE CES RESULTATS ANATOMOPATHOLOGIQUES

1 - Validité des résultats

2 - Discussion des résultats obtenus avec les différents promoteurs utilisés

3 - Hypothèse quant au mode d'action des promoteurs utilisés

II - MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES

A - LA GAMMA GLUTAMYL TRANSPEPTIDASE (GGT)

1 - Généralités
2 - Analyse des résultats

B - L'ALDOLASE

1 - Généralités
2 - Analyse des résultats

C - LES AUTRES PARAMETRES PLASMATIQUES MESURES

1 - Les Phosphatases alcalines
2 - Les triglycérides
3 - Le cholestérol total

D - DISCUSSION

III - CORRELATIONS ENTRE RESULTATS ANATOMOPATHOLOGIQUES ET LES RESULTATS BIOCHIMIQUES

CONCLUSION

UNIV. LYON TOUL.

INTRODUCTION

Durant les dernières décennies les scientifiques et le public ont été largement confrontés au problème du cancer. Il devient donc de plus en plus important d'en évaluer les risques.

Tous les produits cancérogènes chez l'homme l'étant aussi chez l'animal, l'évaluation du risque cancérogène des diverses substances destinées à la consommation humaine s'est faite sur des modèles animaux.

Les premiers tests élaborés et standardisés avant que les mécanismes de cancérogénèse n'aient été étudiés se révélèrent très vite insuffisants. Depuis, bien que des progrès considérables concernant le devenir et le mode d'action des différents produits cancérogènes aient été réalisés, l'appréciation de leur risque lié à leur emploi et l'extrapolation à l'homme restent un problème d'actualité.

Les différentes études standardisées proposées par le N.C.I. (National Cancer Institute) et la F.D.A. (Food and Drug Administration) nécessitent l'administration prolongée des produits testés à deux espèces animales (rat, souris ou hamster). Elles se révèlent donc longues et onéreuses. Ainsi le screening préalable proposé par WEISBURGER et WILLIAMS (1981) (37) faisant intervenir une batterie de tests courts et des tests à moyen terme, s'avère très intéressant.

L'objet de cette thèse est de déterminer, à l'aide d'un test à moyen terme effectué in vivo chez le rat, le rôle de certains produits cancérogènes connus, tels que le Phénobarbital (PB), l'Aroclor (ou Polychlorinated biphenyl : PCB) et le Dichlorodiphenyl Trichloro Ethane (DDT). Le premier intérêt de cette étude est de bien maitriser ce type de test au travers des modifications anatomopathologiques et biochimiques rencontrées. Le deuxième intérêt réside dans la bonne connaissance des produits utilisés qui pourront servir de témoins positifs dans des études ultérieures.

Ainsi, après une première partie consacrée à la mise en place des tests à moyen terme en cancérogénèse expérimentale, nous présenterons dans un deuxième temps, les modalités du protocole de l'étude envisagée.

Enfin, la troisième partie regroupant l'ensemble des résultats nous retiendra plus longtemps. Dans cette dernière partie après avoir étudié les différentes lésions anatomopathologiques rencontrées, nous analyserons les résultats tant histologiques que biochimiques avant d'en établir les corrélations qui nous permettront d'en faire la synthèse.

IÈRE PARTIE

RAPPELS GENERAUX CONCERNANT LES ETUDES DE CANCEROGÉNÈSE

I - PLACE DES ETUDES DE CANCEROGENESE EN TOXICOLOGIE

Tout médicament, avant d'acquérir son autorisation de mise sur le marché, doit subir une série d'études que l'on peut classer en 6 rubriques

1 - Toxicité aigue
2 - Toxicité subaigue
3 - Toxicité chronique
4 - Etudes de la fonction de reproduction
    . Segment I - Etude de la fertilité
    . Segment II - Recherche d'une action tératogène
    . Segment III - Etude du développement péri et post-natal
5 - Etude du pouvoir mutagène
6 - Etude du pouvoir cancérogène.

Parmi toutes ces épreuves, les études de cancérogénèse ne sont rendues obligatoires que pour les produits répondant à une des caractéristiques suivantes (20) :

- Produit dont le temps d'administration prévu chez l'homme est d'au moins 26 semaines par an et ceci de façon continue ou discontinue,
- Produit présentant une structure chimique proche de celle d'un cancérogène connu,
- Produit présentant une action biologique proche de celle d'un cancérogène connu,
- Produit ayant tendance à s'accumuler dans l'organisme,
- Produit pour lequel tous les tests de mutagénèse auquel il a été soumis se sont révélés positifs dans leur ensemble.

Les études de cancérogénèse concernent déjà un grand nombre de substances et risquent dans un proche avenir de s'étendre à la quasi-totalité des produits destinés à la consommation humaine.

II - DEFINITION DES CARCINOGENES CHIMIQUES

Avant de mettre en place les différents types de tests capables de déceler une activité cancérogène, nous allons rappeler brièvement les définitions classiques concernant un agent cancérogène.

Un produit est reconnu cancérogène quand son administration chez l'animal entraine l'apparition de tumeurs histologiquement décelables, apparition qui doit se conformer aux types de réponses suivantes (37) :

- Augmentation de l'incidence des types de tumeurs observées chez les animaux traités par rapport aux témoins,
- Apparition des tumeurs de façon plus précoce chez les animaux traités, par rapport aux témoins,
- Développement chez les animaux traités de types de tumeurs non observées chez les témoins,
- Augmentation de la multiplicité des tumeurs chez les animaux traités par rapport aux témoins.

Suivant leur mode d'action il convient de distinguer plusieurs types de cancérogènes chimiques que l'on rassemble en deux groupes :

- Cancérogènes génotoxiques : entrainant des modifications de l'A.D.N.
- Cancérogènes épigénétiques : sans action sur le génome des cellules.

Cette nouvelle classification a été proposée en 1980 par J. Weisburger et G.M. Williams (37) (cf. tableau 1)

TABLEAU I

CLASSIFICATION DES PRODUITS CHIMIQUES CARCINOGENES

(d'après Weisburger et Williams 1980)

TYPE	MODE D'ACTION	EXEMPLE
A. GENOTOXIQUE		
1. Carcinogène direct ou primaire	Electrophile, composé organique, génotoxique interagit avec l'ADN	Ethylène imine, bis (chlorométhyl) éther
2. Procarcinogène ou carcinogène secondaire	Necessite une conversion par activation métabolique de la part de l'hôte ou in vitro, pour donner un carcinogène du type 1	Chlorure de vinyl, Benzo(a) pyrène, 2-naphthylamine diméthylnitrosamine
3. Carcinogène inorganique	N'est pas directement génotoxique, amène des changements dans l'ADN par altération sélective dans la fidélité de réplication de l'ADN	Nickel, chrome
B. EPIGENETIQUE		
4. Carcinogène solide remanent	Mécanisme exact inconnu, d'ordinaire affecte seulement les cellules et tissus mésenchymateux ; prothèse	Lames de plastique polymérisé ou métalliques amiante
5. Hormone	Ordinairement non génotoxique altère principalement l'équilibre endocrinien et la différenciation ; agit souvent comme promoteur	Oestradiol diéthylstilbestrol
6. Immunosuppresseur	Ordinairement non génotoxique stimule principalement les néoplasmes "induits viralement", transplantés ou métastasiques	Azathioprine, sérum antilymphocytaire
7. Cocarcinogène	Non génotoxique ni carcinogénique, mais augmente l'effet des agents de type 1 ou type 2 quand il est donné en même temps. Peut modifier la conversion de l'agent du type 2 en type 1	Esters de phorbol, pyrène catéchol, alcool éthylique n-dodécan, SO2
8. Promoteur	Non génotoxique ni carcinogène, mais augmente l'effet de l'agent du type 1 ou du type 2 lorsqu'il est donné consécutivement	Esters de phorbol, phénol, anthraline, acides biliaires, métabolites du tryptophane, saccharine

III - PRINCIPES DE BASE ET LIMITES DES DIFFERENTS TYPES DE TESTS UTILISES EN CANCEROGENESE EXPERIMENTALE

1 - TESTS A LONG TERME

Ce sont les tests classiquement recommandés par les autorités de tutelle. (6, 24, 25, 43)
Ils nécessitent une administration prolongée du produit en vue d'entrainer l'apparition de tumeurs anatomiquement décelables chez l'animal vivant.

Ces études sont longues : 24 mois chez le rat, 18 mois chez la souris ou le hamster. Elles nécessitent une surveillance quasi permanente, d'un nombre important d'animaux de deux espèces différentes.

Elles sont onéreuses pour l'industriel, du fait du retard dans l'exploitation du produit si celui-ci n'est pas cancérogène et inversement, elles constituent un investissement non rentable si le produit se révèle cancérogène à la fin de l'étude.

De plus, elles ne permettent pas la détection de tous les produits cancérogènes. En effet, les produits initiateurs purs ont besoin d'un promoteur et les agents promoteurs ont besoin d'une phase d'initiation préalable.

2 - TESTS A COURT TERME

Ces tests sont, pour la plupart, effectués in vitro ; ils visent à mettre en évidence une éventuelle action sur le génome et sont d'autant plus fiables qu'ils sont utilisés en batterie.

Ils apparaissent très intéressants pour la détection précoce des cancérogènes génotoxiques primaires. De plus, à condition d'utiliser des tests adaptés, tel le test de AMES (1) modifié par SUGIMARA (37) ou des tests sur culture cellulaire (40). qui permettent certaines réactions métaboliques, ils pourront également être utilisés pour la détection de certains cancérogènes secondaires.

Mais, ne tenant pas compte des phénomènes immunitaires ni de l'environnement homéostasique propre à tout être vivant, ils rendent délicate toute extrapolation à l'animal et à fortiori à l'homme.

Au vu de ces limites WEISBURGER et WILLIAMS (37 - 38) ont proposé une nouvelle méthodologie pour l'appréciation du pouvoir cancérogène d'un produit. Cette méthodologie, outre la nécessité de bien connaître la structure chimique du produit et l'utilisation de tests à court terme en screening, fait intervenir des tests à moyen terme.

3 - TESTS A MOYEN TERME

Ce sont des tests effectués in vivo, de durée n'excédant pas un an. Ils présentent un compromis entre les deux systèmes précédents car moins onéreux et plus facile à mettre en place que les tests longs, ils préservent cependant l'environnement animal qui n'existait pas dans les tests courts.

Grâce à une bonne connaissance de la structure chimique du produit et de son devenir métabolique, il est possible de sélectionner des tests à moyen terme adaptés à ce produit.

Enfin, des protocoles appropriés permettront de déterminer la nature du carcinogène : génotoxique complet, génotoxique initiateur, épigénétique promoteur, ...

2ÈME PARTIE

PRESENTATION DU TEST A MOYEN TERME ETUDIÉ

Ce test a pour but d'étudier le phénomène de la promotion en cancérogénèse et en particulier l'action d'un promoteur en fonction de la dose administrée ou de son association avec un autre promoteur.

Pour celà, le test choisi a été le test d'induction de foyers d'altérations cellulaires, de nodules néoplasiques et de carcinomes dans le foie de rat (27).

L'agent initiateur utilisé a été le FAA. N-2 Acetyl aminofluorène, et les promoteurs testés : le phénobarbital (PB)
le Dichloro diphenyl trichloro ethane (DDT)
l'Aroclor 1254 (PCB = Polychlorinated Biphenyl)

1 - ANIMAUX

a) Caractéristiques

Les animaux utilisés étaient des rats males Fischer de souche Cobs F311 Crl Br. Ils ont été fournis par la Société Charles River France et ont été soumis à une période d'acclimatation de deux semaines environ avant le début de l'expérimentation. Ils étaient alors agés d'environ huit semaines et leur poids variait entre 167 et 180 grammes. 167 animaux en tout ont été utilisés. 160 d'entre eux ont été sélectionnés après un examen clinique et des examens sanguins (biochimiques). Ces 160 animaux ont été répartis par tirage au sort en 11 lots de 20 animaux pour le lot témoin et 14 pour les autres lots.

Ces animaux ont été choisis en raison de leur utilisation quasi systématique dans tous les essais du même type rapportés par les différents auteurs qui accordent à cette souche et à ce sexe une plus grande sensibilité de réponse vis à vis des cancérogènes hépatiques.

b) Identification

L'identification de chaque animal a été effectuée par un marquage aux oreilles selon la méthode de M. SABOURDY, 1977, modifiée conformément à nos procédures de laboratoire .

c) Entretien

. Alimentation

Les animaux ont reçu "ad libitum" de l'aliment composé complet A04.C (sous forme de poudre) de U.A.R. (7, rue Galliéni, Villemoisson, 91360 Epinay-Sur-Orge - France).

Un contrôle de la qualité nutritive, bactériologique et une recherche de polluants éventuels (métaux lourds, mycotoxines, organo-chlorés et organo-phosphorés) a été effectué sur cet aliment.

. Abreuvement

Les animaux ont reçu "ad libitum" de l'eau de ville en biberon individuel de polyéthylène (capacité : 250 ml - embout conique).

. Environnement

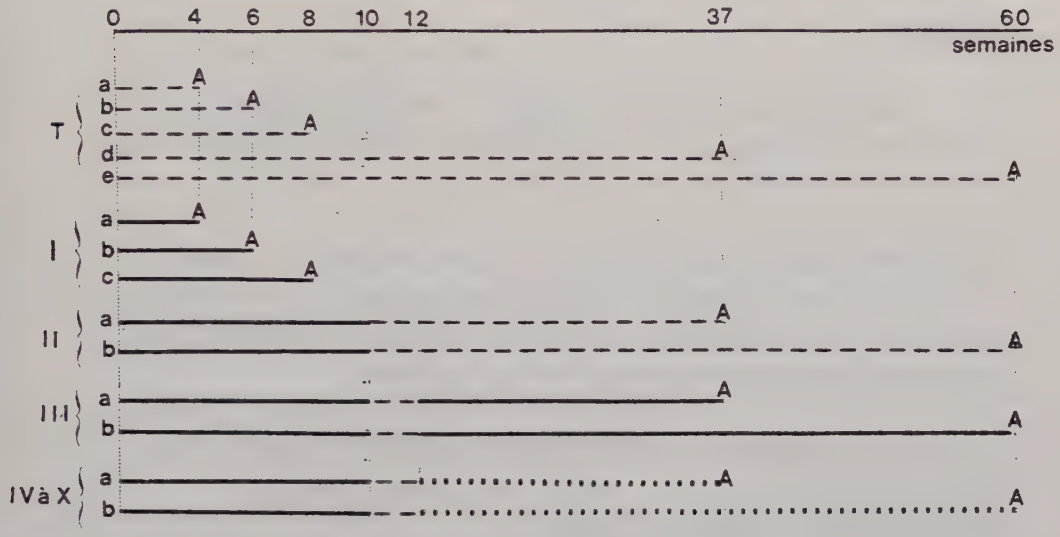
La température était réglée à 21°C (+ ou - 2°C), l'hygrométrie à 50 % (+ ou - 20 %), la photopériode à 12/24 heures et l'air était renouvelé 10 fois par heure sans recyclage.

. Habitat

Les animaux étaient entretenus dans des cages individuelles en makrolon type SM (Iffa Credo), dimensions : 30 x 20 x 14 cms. Elles étaient munies d'un couvercle en inox.

2 - MODALITES DU TRAITEMENT

Elles sont résumées dans le diagramme suivant :



— — — Nourriture de base

——— Initiateur FAA 200 ppm

..... Promoteur

IV	PB250	ppm
V	PB500	ppm
VI	PCB250	ppm
VII	PCB500	ppm
VIII	PCB500 + PB500	ppm
IX	DDT500	ppm
X	PCB250 + DDT250	ppm

A Autopsie précédée d'un traitement à l'Inferon 125 ml/al par voie SC à raison de 6 administrations, un jour sur deux, avec dernière administration la veille de l'autopsie.

Composition des lots

	T	Ta Tb Tc : 2 animaux Td : 9 animaux Te : 5 animaux
	1	1a et 1b : 4 animaux 1c : 6 animaux
lots II à X		a : 9 animaux b : 5 animaux

total : 160 animaux

REMARQUES

1 - L'induction des lésions par le FAA à 8 semaines (lot Ic) étant insuffisante, la phase d'initiation a été prolongée de deux semaines pour tous les autres lots.

2 - Le traitement à l'Inferon dans les jours précédant l'autopsie induit une sidérose hépatique. Cette sidérose facilite le repérage des nodules néoplasiques qui se révèlent résistants à l'accumulation de fer et donc négatifs après coloration au Perls.

Ce critère recommandé par GM WILLIAMS en 1980, a déjà été utilisé à plusieurs reprises et s'est révélé très efficace (thèse du Dr Vétérinaire B. REMANDET - 1980).

3 - EXAMENS EFFECTUES

a) Observations quotidiennes et examens cliniques

Les animaux ont été observés chaque jour durant toute la durée du traitement. Seules les anomalies observées ont été notées.

. Evolution pondérale

Les animaux ont été pesés individuellement chaque semaine.

. Examens sanguins - Biochimie

Les examens ont été effectués avant traitement et aux semaines 10 - 12 - 23 - 34 - 46 et 58, sur un échantillon de sang prélevé le matin par ponction du sinus rétroorbitaire chez tous les animaux préalablement mis à jeun.

Les paramètres mesurés sont :

- Protéines totales en c/l
- Cholestérol total
  libre en c/l

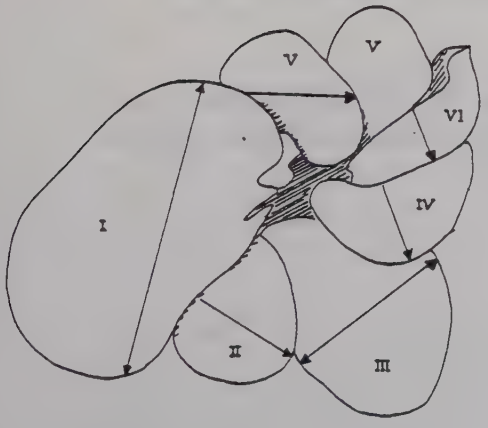
- Phosphatases alcalines U.I.
- Triglycérides U.I.
- Gamma glutamyl transpeptidase U.I.
- Aldolase U.I.

b) Autopsie

Les animaux ont été sacrifiés par exsanguination à l'aorte abdominale après anesthésie générale au pentobarbital sodique.

Au cours de l'autopsie, les lésions macroscopiques ont été relevées et le foie a été prélevé et pesé. La partie distale de chaque lobe (gauche, médial gauche, médial droit, droit intérieur, droit postérieur et caudé) a été éliminée. Le foie restant a été fixé dans une solution à 10 % de formol tamponnée.

FIGURE I



I lobe gauche
II lobe médial gauche
III lobe médial droit
IV lobe droit antérieur
V lobe droit postérieur
VI lobe caudé

Remarque :

Tout animal en cours d'étude (trouvé mort ou moribond sacrifié) a subi le même protocole d'autopsie.

c) Etude anatomo-pathologique

Après fixation, une tranche d'environ 5 mm a été recoupée sur chaque lobe précité et après une première coloration par la méthode de Perls elle a été incluse et montée en bloc de paraplast de manière à présenter à la section une face de coupe.

2 sections sériées de 5 µm d'épaisseur ont été effectuées sur 6 lobes. La première a été colorée à l'hématoxyline éosine et la deuxième par la coloration de Perls afin de révéler la sidérose hépatique induite.

d) Etude statistiques

Elle a porté sur les lésions hépatiques observées et sur les paramètres biochimiques.

Dans chaque lot, moyenne et écart type ont été calculés pour chacun des paramètres étudiés et les coefficients de corrélation entre ces paramètres ont été établis.

3ÈME PARTIE

RESULTATS

I - RESULTATS ANATOMO-PATHOLOGIQUES

L'appréciation de l'activité cancérogène des produits testés a été basée sur le comptage :
- des foyers d'altérations cellulaires,
- des nodules néoplasiques résistants à la sidérose induite,
- et des carcinomes

Chaque section de lobe hépatique a donc fait l'objet d'un comptage et d'une mesure de surface en vue de donner les résultats en nombre de foyers ou de nodules par cm2 de surface examinée.

Quant aux carcinomes, le résultat a été donné en pourcentage de surface envahie par le(s) carcinome(s) par rapport à la surface totale examinée.

Cependant, chez les animaux présentant des zones de carcinome très développées et envahissantes, le nombre de foyers et de nodules a été ramené à l'unité de surface non envahie par le carcinome.

Avant d'analyser les différents résultats obtenus il convient d'étudier les critères morphologiques et la signification des différentes lésions rencontrées.

A - CRITERES MORPHOLOGIQUES

Les modifications cellulaires apparaissant dans le foie de rat soumis à un cancérogène ont été décrites dans le Journal of National Cancer Institute 1980 (10) et par SCHAUER et KINZE (29) et SQUIRE et LEWITT en 1975 (32).

Certaines lésions apparaissent spécifiques de l'action cancérogène du produit. Ce sont les foyers d'altérations cellulaires, les nodules néoplasiques et les carcinomes.

a) Les foyers d'altérations cellulaires

Ils se présentent sous forme de plages cellulaires d'architecture légèrement modifiée par rapport au tissu sain, ils ne compriment pas le parenchyme voisin et classiquement on peut les diviser en 4 types suivant les altérations cellulaires observées :
- foyers à cellules claires
- foyers à cellules acidophiles
- foyers à cellules basophiles
- foyers composés d'un assemblage de ces 3 types cellulaires

b) Nodules néoplasiques

Ils sont composés par les mêmes cellules que les foyers, mais s'en distinguent par une architecture beaucoup plus anarchique et une compression du parenchyme voisin caractérisant une croissance centrifuge.

c) Carcinomes hépatocellulaires

D'une taille souvent supérieure aux nodules néoplasiques, ils compriment ou envahissent le parenchyme voisin.

Suivant l'arrangement des cellules qui le composent, on distingue :
- l'hépatocarcinome trabeculaire présentant des cellules arrangées en travées de 2 à 10 cellules d'épaisseur.
- l'hépatocarcinome avec formations glandulaires : les hépatocytes se groupant alors pour former de véritables acini.

Quelque soit le type de carcinome, le nombre de mitoses apparaît toujours très important, même si les cellules semblent parfois peu altérées et très homogènes.

d) Cholangio carcinome

C'est un adénocarcinome dont les formations glandulaires prolifératives sont toujours accompagnées d'un stroma conjonctif sous jacent.

L'épithélium qui le compose, parfois pluristratifié, est composé de cellules cubiques ou cylindriques, au noyau occupant le pôle basal avec, de place en place, des cellules à mucus. Cet épithélium délimite des lumières de taille variable et parfois envahies de proliférations papillaires.

Cependant, avec les produits cancérogènes utilisés, ce type de carcinome a presque toujours été observé intimement lié à l'hépatocarcinome et il nous est apparu plus justifié de lui donner le nom d'hépatocholangio carcinome.

e) Lésions associées

A ces lésions spécifiques d'une action cancérogène des produits utilisés viennent s'ajouter des lésions qui accompagnent le processus cancéreux. Celles-ci ne peuvent être considérées comme des manifestations néoplasiques car elles sont également observées dans de nombreuses autres conditions comme la ligature partielle d'un lobe hépatique ou l'hépatectomie partielle (33) (34).

. Nodules régénératifs

Ils sont le résultat d'une action cytotoxique (5), des produits utilisés sur les cellules saines entraînant des phénomènes compensateurs.

Ils ressemblent aux nodules néoplasiques par leur nature expansive centrifuge mais leur population cellulaire a gardé les caractères des hépatocytes normaux donc une architecture interne peu modifiée et une activité enzymatique non altérée, leur permettant de fixer le fer après siderose induite. On les distinguera donc des nodules néoplasiques par leur positivité à la réaction de Perls.

. Ectasie capillaire

Encore appelée "espace bordé de cellules endothéliales" par les auteurs anglo-saxons (3), cette lésion, sur le plan macroscopique, apparaît sous forme de plages où la disparition des hépatocytes n'a laissé qu'un lache réseau de cellules endothéliales. Et malgré l'absence d'hématies visibles, le terme d'ectasie capillaire, quoique pouvant apparaître impropre, a été retenu pour la commodité de l'exposé.

. Prolifération polykystique des canaux biliaires

Situées en général en périphérie des lobes hépatiques, ces proliférations se présentent sous la forme de plusieurs cavités limitées par un épithélium cholangiocellulaire aplati par la dilatation kystique. Cette lésion ne comprime pas le parenchyme voisin, mais peut atteindre une taille considérable en se substituant à lui.

. Adénome biliaire

C'est une prolifération épithéliale qui se développe à partir des canaux biliaires. Ils se présentent sous forme de cavités limitées par un épithélium, le plus souvent unistratifié avec parfois des cellules à mucus et pouvant émettre des expansions papillaires. Cet adénome manifeste toujours une croissance centrifuge se traduisant par une compression du parenchyme périphérique.

Sans atypie cellulaire, cette lésion a été considérée comme bénigne.

. Cholangio fibrose

Encore appelée adénofibrose par certains auteurs, cette lésion consiste en une prolifération de cellules de canaux biliaires s'organisant plus ou moins autour d'une lumière étroite et toujours accompagnée d'une prolifération importante de tissus fibreux.

Ces zones de cholangiofibrose se développent à partir des espaces portes et peuvent en fin d'évolution envahir tout un lobe hépatique.

. Prolifération de cellules ovalaires

- Les cellules ovalaires dérivent des cellules des passages de Hering (30)
- Leur prolifération se fait en travées à partir des espaces portes, travées qui finissent par diviser le foie en pseudo lobules.
- A cette prolifération en travées à partir des espaces portes, s'ajoute parfois une prolifération beaucoup plus diffuse se caractérisant par l'apparition de telles cellules au milieu des travées hépatocytaires.

De plus, ces cellules sont parfois l'objet d'une différenciation
- soit canalaire, avec ou sans formations kystiques,
- soit hépatocytaire avec arrangement glandulaire plus ou moins marqué.

Si ces phénomènes ne font que se superposer aux manifestations typiquement néoplasiques au moins durant le début de leur évolution, par la suite la présence, chez certains animaux, d'images de transition entre cellules des canaux biliaires, cellules ovalaires et hépatocytes groupés en acini caractéristiques des hépatocarcinomes, tendrait à donner une signification différente à ce processus.

La prolifération de cellules ovalaires, simple phénomène de compensation, serait-elle suivie d'une transformation néoplasique de ces cellules ? ou au contraire assisterait-on à une dédifférenciation de certains hépatocytes qui ayant retrouvé leur caractère embryonnaire se mettraient à proliférer ?

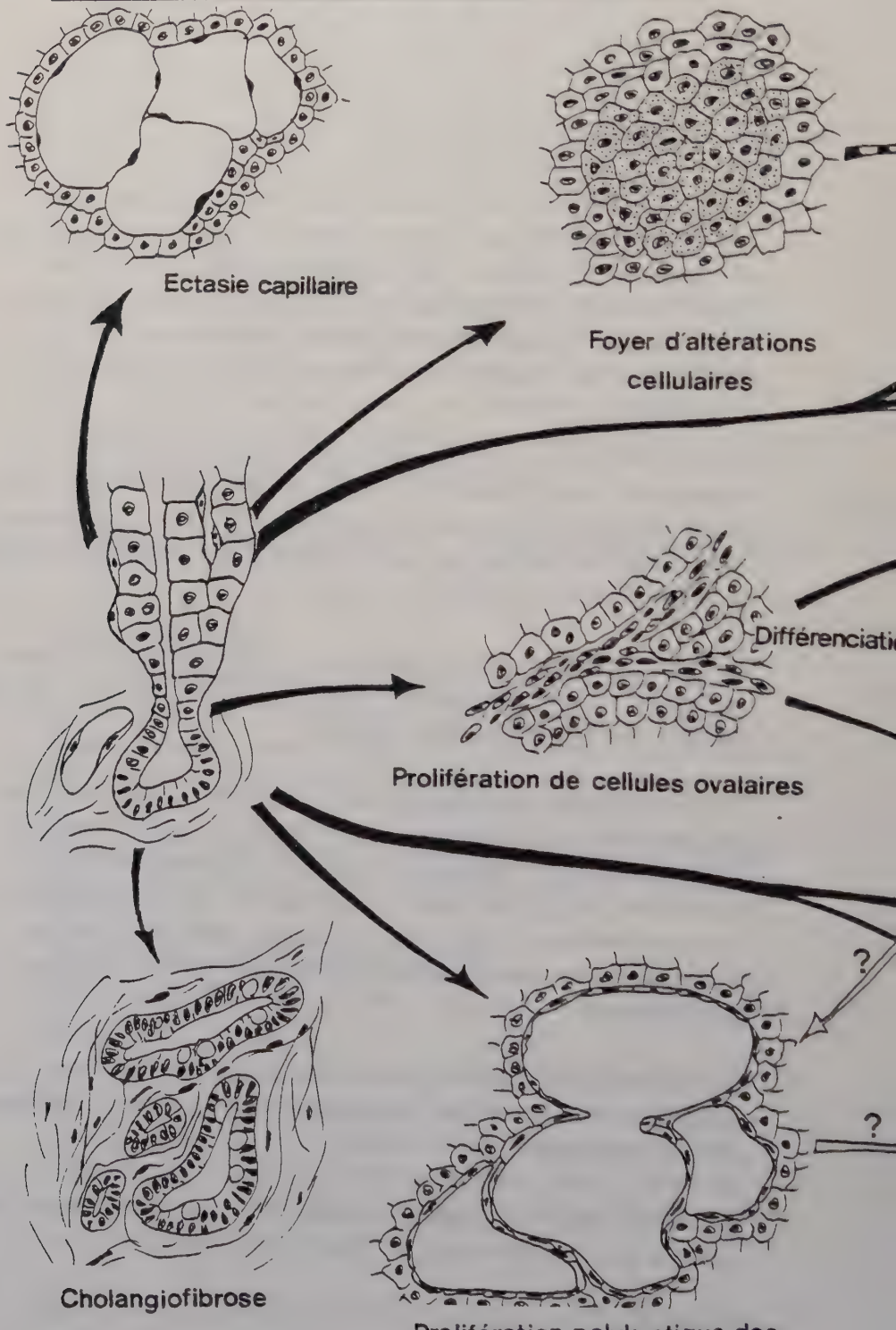
Ces deux hypothèses sont en accord avec le caractère embryonnaire totipotent que l'on accorde à ces cellules ovalaires et pourraient, pourquoi pas ? être intimement mêlées.

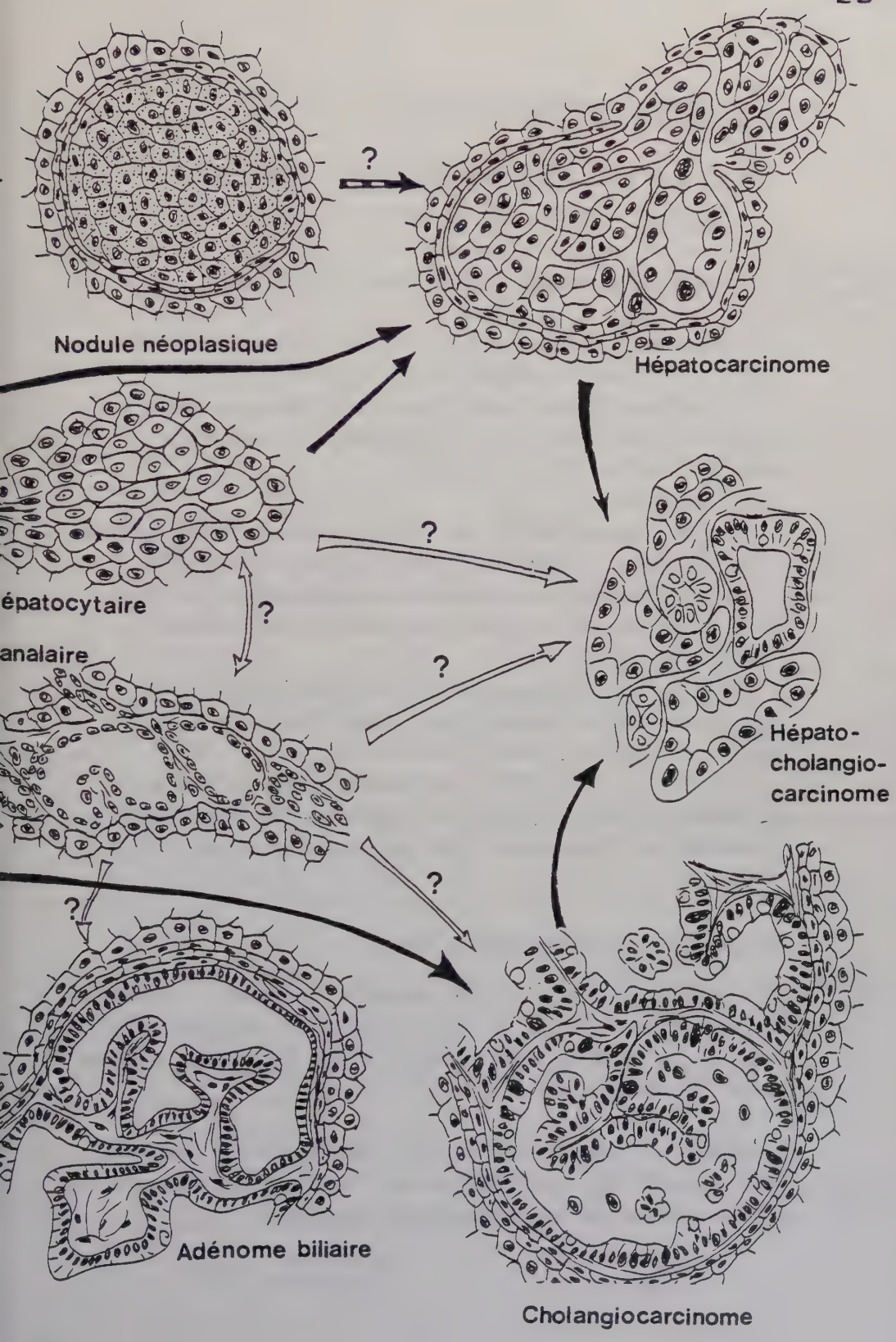
Toutes ces lésions contribuent donc à perturber l'interprétation des manifestations néoplasiques spécifiques et, dans la pratique, seules les lésions, composées de cellules intermédiaires entre hépatocytes et cellules ovalaires, présentant une compression du tissu périphérique, signe d'une croissance centrifuge, ont été considérées comme manifestations néoplasiques et donc rattachées aux carcinomes.

Les différents modifications hépatiques rencontrées ont été rassemblées dans un tableau (tableau II) qui résume leur cinétique et leurs relations.

Ce tableau, établi uniquement d'après nos observations histologiques, complète celui proposé par C.G. THERET (35)

Tableau II : Récapitulation des lésions hépatiques




?
Nodule néoplasique
Hépatocarcinome
?
épatocytaire
?
analaire
?
Hépato-
cholangio-
carcinome
?
?
Adénome biliaire
Cholangiocarcinome

B - RESULTATS PROPREMENT DITS

1 - EVOLUTION DES LESIONS PRENEOPLASIQUES ET NEOPLASIQUES JUSQU'A 37 SEMAINES (cf. tableau III et figures II et III)

a) Evolution des foyers d'altérations cellulaires

- A 4 semaines, seuls quelques foyers d'altérations cellulaires sont visibles chez les animaux du lot Ia autopsiés,
- A 6 semaines, lot Ib, le nombre de foyers par unité de surface augmente de façon marquée et cette augmentation se poursuit jusqu'à 8 semaines lot Ic.
- A 37 semaines :
  . le lot Récupération lot IIa, voit le nombre de foyers diminuer très nettement par rapport aux résultats obtenus à 8 semaines
  . cette régression reste encore très nette, quoique inférieure pour les animaux des lots IVa (PB250 ppm) Va (PB 500 ppm) et IXa (DDT 500 ppm)
  . et elle apparaît beaucoup moins importante dans les lots VIa, VIIa et IXa correspondant aux animaux ayant reçu du PCB seul ou en association avec le PB ou le DDT
  . quant au lot IIIa (FAA) il présente également une régression du nombre de foyers, toujours par rapport aux résultats obtenus à 8 semaines mais nous verrons plus loin la signification de cette régression.

b) Evolution des nodules néoplasiques

Leur apparition est plus tardive que celle des foyers d'altérations cellulaires puisqu'on ne les met en évidence et seulement en petite quantité, qu'à partir de 6 semaines (lot Ib). Leur nombre augmente jusqu'à 8 semaines (lot Ic).

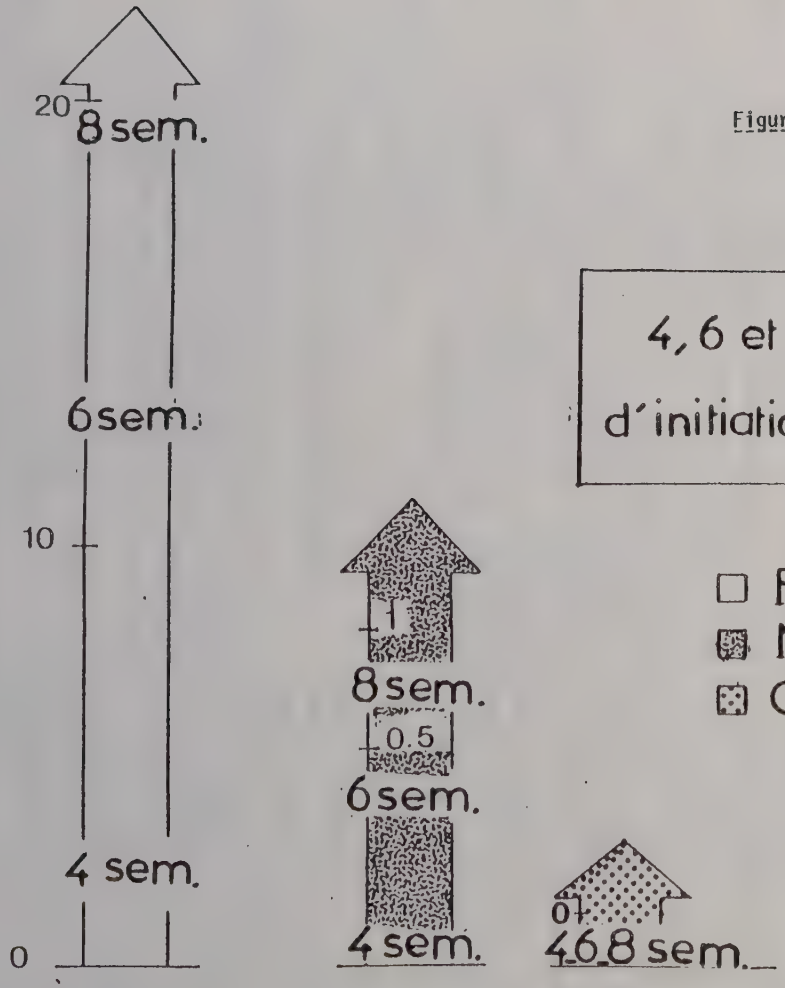
Cependant, le nombre de nodules ayant été jugé insuffisant à cette date, l'initiation a été prolongée de 2 semaines. Une extrapolation de leur nombre à 10 semaines sera donc nécessaire.

TABLEAU III - LESIONS PRENEOPLASIQUES ET NEOPLASIQUES

Lot		Traitement	Foyers	Nodules	Carcinomes	Date de mort (moyenne)
Témoin			0	0	0	
I	a	FAA 4 sem.	2,1 (0,65)	0	0	
	b	FAA 6 sem.	12,6 (1,58)	0,4 (0,05)	0	
	c	FAA 8 sem.	19,6 (1,63)	0,6 (0,17)	0	
II	a	Récup. 37 sem.	1,3 (0,17)	0,1 (0,03)	0	
	b	Récup. 60 sem.	5,9 (0,96)	1,9 (0,78)	16,3 % (11,69)	
III	a	FAA 37 sem.	3,2 (0,2)	1,5 (0,16)	14,1 % (2,5)	
	b	FAA 60 sem.	x	x	100 %	40 sem.
IV	a	PB250 37 sem.	1,6 (0,19)	0,4 (0,1)	2,9 % (1,91)	
	b	PB250 60 sem.	5,2 (0,75)	2,5 (0,4)	42,9 % (9,7)	
V	a	PB500 37 sem.	2,3 (0,21)	0,4 (0,03)	0	
	b	PB500 60 sem.	5,3 (0,84)	3 (0,43)	46,7 % (10,22)	
VI	a	PCB250 37 sem.	6,8 (0,34)	2,8 (0,21)	2 % (0,77)	
	b	PCB250 60 sem.	4,4 (0,21)	5,7 (0,34)	45,5 % (17,34)	
VII	a	PCB500 37 sem.	6,4 (0,4)	3,9 (0,31)	3,9 (1,34)	
	b	PCB500 60 sem.	x	x	100 %	49 sem.
VIII	a	PCB500 + PB500 37 sem.	7,3 (0,45)	5,2 (0,53)	6,2 % (0,9)	
	b	PCB500 + PB500 60 sem.	x	x	100 %	55 sem.
IX	a	DDT500 37 sem.	4 (0,58)	0,9 (0,21)	1,7 % (0,96)	
	b	DDT500 60 sem.	2,8 (0,69)	2,9 (0,95)	57,8 (6,48)	
X	a	DDT250+PCB250 37 sem.	7 (0,45)	3,5 (0,51)	2,1 (0,84)	
	b	DDT250+PCB250 60sem.	x	x	100 %	46 sem.

N moyenne du lot
(N) écart type

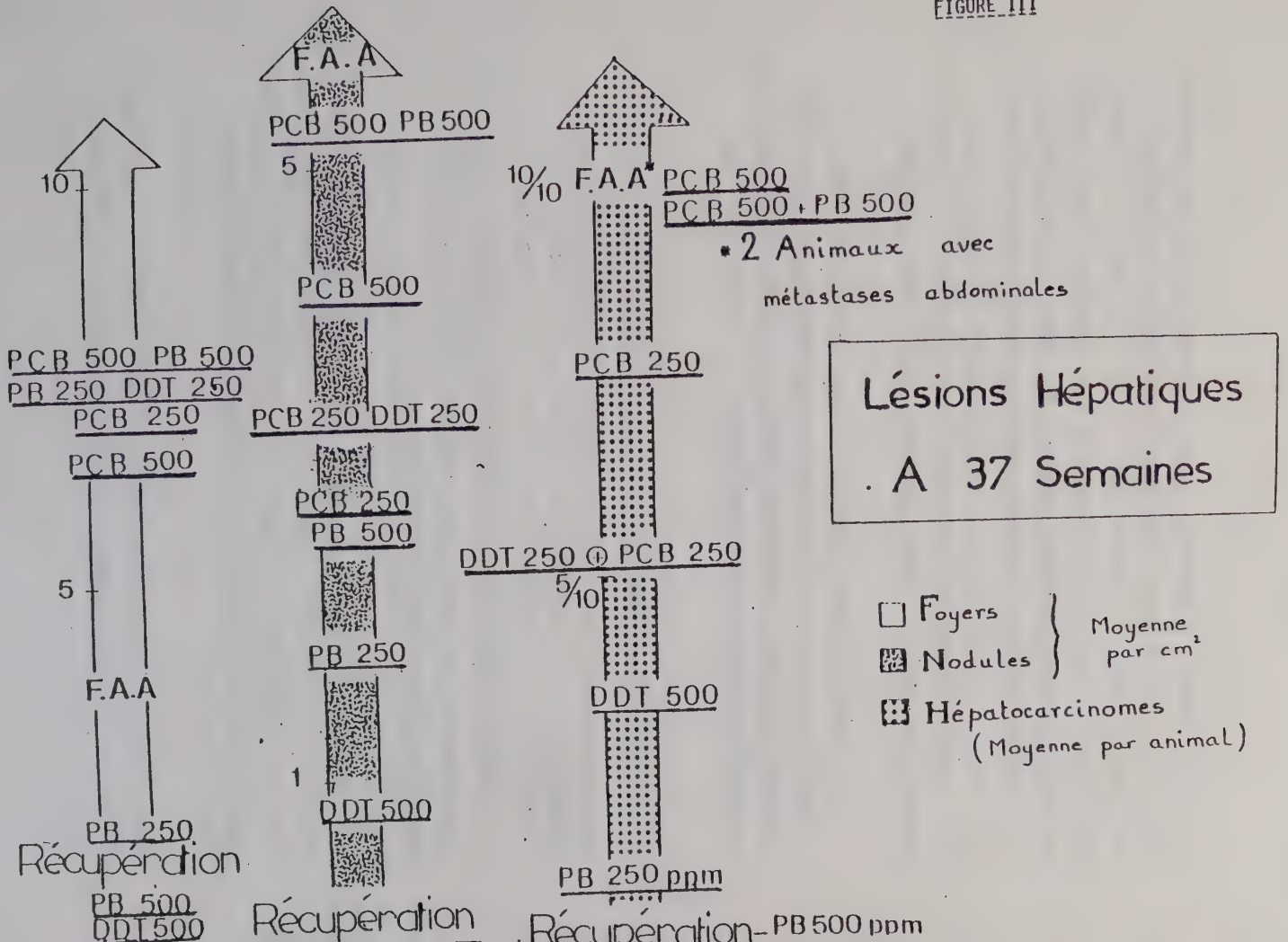
Figure II



4, 6 et 8 Semaines
d'initiation avec le F.A.A.

□ Foyers
▨ Nodules
} Moyenne par Cm²
▨ Carcinomes (Moyenne par animal)

FIGURE III


F.A.A
PCB 500 PB 500
5
PCB 500
PCB 250 DDT 250
PCB 250
PB 500
PB 250
1
DDT 500
Récupération
10
PCB 500 PB 500
PB 250 DDT 250
PCB 250
PCB 500
5
F.A.A
PB 250
Récupération
PB 500
DDT 500
10/10 F.A.A*
PCB 500
PCB 500 + PB 500
* 2 Animaux avec métastases abdominales
PCB 250
DDT 250 ⊕ PCB 250
5/10
DDT 500
PB 250 ppm
Récupération - PB 500 ppm
Lésions Hépatiques
. A 37 Semaines
Foyers
Nodules
Moyenne par cm²
Hépatocarcinomes
(Moyenne par animal)

. A 37 semaines on constate, chez les animaux du lot Récupération (lot IIa) une très nette diminution de ces nodules par rapport aux résultats obtenus à 8 semaines et à fortiori par rapport au nombre de nodules présents à 10 semaines si l'on admet que sous l'action du FAA le nombre des nodules néoplasiques continue de croître, ce qui est corroboré par les nombreuses études similaires (14-27-28-33).

. L'administration de phénobarbital seul ou de DDT seul, voit leur nombre se maintenir au niveau atteint après 8 semaines de FAA.

. Par contre ce nombre augmente de façon significative avec l'administration de PCB seul (lots VIa ou VIIa) ou en association (lots VIIIa et Xa) . Cette augmentation est encore plus marquée dans le lot IIIa traité uniquement au FAA.

c) Evolution des carcinomes

Aucun carcinome n'a été mis en évidence avant 8 semaines (lots Ia - Ib et Ic).

A 37 semaines, dans le lot IIIa et chez les animaux morts avant la 37ème semaine, ils apparaissent très développés, envahissants et même métastatiques chez certains animaux.

Ils sont moins étendus et sans métastase ou envahissement du réseau vasculaire visible, mais présents chez une grande majorité d'animaux, dans les lots traités au PCB à la dose de 500 ppm (lot VIIa et VIIIa) et à un degré moindre chez ceux traités à la dose de 250 ppm (lots VIa et Xa).

Enfin, dans les lots traités au PB ou au DDT (lots IVa - Va et IXa) ils ne sont mis en évidence que chez un faible nombre d'animaux.

2 - EVOLUTION AU-DELA DE 37 SEMAINES (cf. tableau III)

- Dans le lot témoin aucune manifestation néoplasique n'est à relever. Seul un animal a présenté plusieurs nodules blanchâtres au niveau du foie et l'examen histologique a permis de diagnostiquer un lymphosarcome multicentrique avec plusieurs foyers disséminés dans le foie. Ce type de lésion, n'ayant été retrouvé chez aucun autre animal, est sans aucun doute imputable à la pathologie spontanée du rat Fischer male (8).

- Tous les autres animaux présentaient des carcinomes
  . peu développés avec un animal sur cinq présentant une métastase ou des envahissements du système vasculaire dans le lot Récupération (lot IIb)
  . montrant un caractère beaucoup plus envahissant et avec métastases dans les lots traités au PB (lot IVb et Vb) au DDT (lot IXb) et au PCB à la dose de 250 ppm (lot Vb)
  . ayant envahi la quasi totalité des sections de foies examinées et ayant entrainé la mort de tous les animaux dans les autres lots : IIIb (FAA) - VIIb (PCB500) - VIIIb (PCB500 + PB500) et Xb (PCB500 + DDT500)

- Quant aux foyers et nodules présents au-delà de 37 semaines, leur évolution n'a pu être appréciée que dans les lots où l'invasion par les carcinomes n'était pas totale et épargnait un peu de parenchyme.
  Cependant, même dans ce cas, un problème se pose quant à la signification à donner aux foyers et nodules jouxtant un carcinome envahissant.

3 - EVOLUTION DES LESIONS ASSOCIEES (cf. tableau IV)

a) Ectasie capillaire

Les zones de peliose rencontrées sont souvent en relation avec des foyers d'altérations cellulaires ou des nodules néoplasiques. Elles sont réduites et ne dépassent jamais la taille d'un lobule hépatique à 37 semaines, mais peuvent envahir toute une partie d'un lobe chez certains animaux à 60 semaines.

Elles n'ont jamais été trouvées chez les témoins et ont surtout été observées dans les lots III (FAA), IV et V (PB) et IX (DDT).

b) Prolifération kystique des canaux biliaires et cholangiofibrose

Ces deux types de lésions vont souvent de pair. Jamais rencontrées chez les témoins, leur apparition semble suivre la gravité de l'atteinte hépatique.

- Réduites dans les lots II (Récupération)
  IV et V (PB) à 37 semaines
  VI (DDT)

Elles se développent par la suite et apparaissent plus marquées à 6 semaines.

- Par contre les lots III (FAA) VI, VII, VIII et X (ayant reçu du PCB) sont l'objet d'une apparition beaucoup plus précoce de prolifération kystique et donc d'une atteinte plus marquée à 37 semaines. Celle-ci aboutit à 60 semaines à des images hépatiques totalement envahies par un carcénome et de la cholangiofibrose.

c) Prolifération de cellules ovalaires

Là aussi la prolifération des cellules ovalaires semble aller de pair avec l'atteinte hépatique et n'a pas été décelée chez les témoins.

Ces cellules apparaissent dès la 6ème semaine de traitement au FAA (lot Ib) sous forme de nappes se développant à partir des espaces portes. A 8 semaines (lot Ic) elles forment des travées qui délimitent des pseudolobules hépatiques.

TABLEAU IV - LESIONS ASSOCIEES

Lot		Traitement	Ectasie capillaire	Prolifération kystique des canaux biliaires	Cholangio-fibrose	Prolifération de cellules ovalaires	
						en travées	avec différenciation
témoin		-	0	0	0	0	0
I	a	4 sem. FAA				+	
	b	6 sem. FAA				++	
	c	8 sem. FAA				+++	
		Récupération					
II	a	37 sem.		+	+	+	
	b	60 sem.		+	+	++	
III	a	37 sem. FAA		+	+	++	
	b	60 sem. FAA		carcinome envahissant + fibrose			
IV	a	37 sem. PB250	+			+	
	b	60 sem. PB250	+	+		++	
V	a	37 sem. PB500	+	+		+	
	b	60 sem. PB500	+	++		++	+
VI	a	37 sem.PCB250		++	++	+++	+++
	b	60 sem.PCB250		+++	+++	+++	++
VII	a	37 sem.PCB500		+++	+++	+++	+++
	b	60 sem.PCB500		carcinome envahissant + fibrose			
VIII	a	37 sem.PCB500 +		+++	+++	+++	+++
	b	60 sem.PB 500		carcinome envahissant + fibrose			
IX	a	37 sem.DDT500	+			+	+
	b	60 sem.DDT500	++	++	+	++	++
X	a	37 sem.PCB250 +		++	++	++	++
	b	60 sem.DDT250		carcinome envahissant + fibrose			

\+ minime
++ modérée
+++ importante

- Ces cellules vont ensuite subir une régression notable à 37 semaines chez les animaux du lot II (Récupération) et à un degré moindre chez les animaux des lots IV - V (PB) et IX (DDT).

- Par contre, l'administration du PCB (lots VI - VII - VIII et IX) va entraîner une prolifération de ces cellules ovalaires, non seulement en travées à partir des espaces portes, mais aussi de façon totalement diffuse. Ces cellules, comme nous l'avons décrit plus haut, seront ensuite l'objet d'une différenciation soit canalaire, soit hépatocytaire.

C - DISCUSSION DES RESULTATS ANATOMO-PATHOLOGIQUES

1 - VALIDITE DES RESULTATS

- Les résultats obtenus au cours de la phase d'initiation (développement des foyers et nodules néoplasiques) semblent conformes à ceux d'études analogues (22 - 23 - 27 - 28 - 36 - 42).

- La régression du nombre de foyers et nodules que l'on constate à l'autopsie du lot soumis à la récupération (lot IIa) est un phénomène classique et de nombreuses fois décrit. De même que leur réapparition accompagnée parfois de carcinome après un laps de temps plus long (lot IIb autopsié à 60 semaines) semble confirmer que la récupération n'est jamais totale et qu'elle ne ferait que retarder le développement du processus cancereux (22-23).

- L'augmentation du nombre de nodules avec la reprise du traitement par le FAA (lot IIIa) et la diminution du nombre de foyers alors qu'apparaissent des carcinomes étendus (> 14 % pour l'ensemble des animaux de ce lot) semblent difficilement exploitables. En effet, il est décrit (B. REMANDET 1980) qu'avec une administration prolongée de FAA, le nombre de foyers finit par atteindre un plateau alors que les nodules continuent d'augmenter. Cependant, cette constatation a été faite avec un traitement au FAA relativement court (20 semaines au maximum) qui n'a pas laissé le temps aux carcinomes de se développer.

  Il serait donc, en présence de carcinomes, plus logique de ne tenir compte que de leur stade de développement dès lors que leur croissance n'est plus limitée au parenchyme environnant et qu'ils deviennent envahissants, présentant des émergences disséminées dans le parenchyme hépatique qui, à l'examen histologique, apparaissent comme autant de carcinomes différents.

2 - DISCUSSION DES RESULTATS OBTENUS AVEC LES DIVERS PROMOTEURS TESTES

- Les effets promoteurs du PB (lots IV et V) et du DDT (lot IV) semblent identiques et les résultats obtenus vont exactement dans le même sens que ceux obtenus dans des études similaires (17-22-23-27-36).
  . Les foyers subissent une nette régression cependant moins marquée que celle obtenue avec le lot récupération
  . les nodules d'abord stabilisés ou en légère diminution augmentent ensuite, certains évoluant en carcinome plus précocement que dans le lot Récupération.

- Aux doses utilisées (250 ppm et 500 ppm) le PB semble avoir la même action. Mais une étude plus détaillée serait peut-être nécessaire pour affirmer qu'il n'existe pas d'effet dose. En effet, PERAINO (23) dans une étude similaire avec une analyse plus poussée, obtient un développement des tumeurs hépatiques différant suivant les doses de PB utilisées, cette différence portant à la fois sur l'intensité et sur le délai d'apparition du processus tumoral.

- Chez les animaux ayant reçu du PCB, on constate à 37 semaines, la présence d'un nombre important de foyers et de nodules et à un degré moindre de carcinomes sans qu'il y ait de différence significative attribuable à la dose ou à l'association avec le PB ou le DDT.

  Au-delà de 37 semaines la mort prématurée (avant 60 semaines) de tous les animaux des lots VII (PCB 500ppm) et VIII (PCB 500 ppm et PB 500 ppm) et de 4 animaux sur 5 du lot X (PCB 250 ppm et DDT 250 ppm) et en relation avec un pouvoir cancérogène important du PCB quand celui-ci est administré à la dose de 500 ppm ou à la dose de 250 ppm en association avec le DDT.

  Par contre, au vu des résultats obtenus à 60 semaines dans le lot VIb, le PCB aurait une action beaucoup plus réduite quand il est administré seul à la dose de 250 ppm.

3 - ACTION COMPAREE DES DIFFERENTS PROMOTEURS TESTES

Il est actuellement à peu près admis que les promoteurs comme le PB sont responsables de modifications membranaires des hépatocytes soit directement comme le DDT :

> substance fortement liposoluble, sa simple accumulation au côté des lipides membranaires entrainerait l'inhibition des communications intercellulaires par altération directe des gap-jonctions (39) (41)

soit indirectement comme le PB :

> substance non liposoluble, il agirait en perturbant la synthèse des constituants membranaires par blocage de l'activité enzymatique, soit au niveau de la transcription du gène, soit au niveau de l'assemblage des différents constituants membranaires (39).

De tels promoteurs, par altération des gap-jonctions, bloquant tout échange inter-cellulaire, permettraient ainsi à une cellule, transformée au préalable en cellule précancéreuse par un initiateur, de se libérer des facteurs de contrôle, émis par les cellules saines voisines, qui jusque-là l'empéchaient de se développer (13-15).

Aussi, s'il est sûr que le PB et le DDT sont des agents épigénétiques promoteurs purs, il n'en est pas de même pour le PCB pour qui une action hépatocarcinogène directe a été décrite quand il est administré chez la souris (18) et dans certains cas chez le rat (11-12).

Tout ceci pourrait ainsi expliquer les différences observées entre les lots traités au PCB ou au DDT et les lots ayant reçu du PCB.

En effet, si l'administration de PB (lots IV et V) et celle de DDT (lot IX) semblent avoir entrainé l'apparition de lésions identiques, par contre, l'administration de PCB a entrainé l'apparition beaucoup plus fréquente de prolifération de cellules ovalaires plus ou moins différenciées et dont la signification est encore discutée.

II - MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES

Toutes les modifications histologiques que nous venons d'étudier et qui sont plus ou moins directement liées au processus cancéreux, s'accompagnent de diverses anomalies qu'il peut être intéressant d'étudier :

Nous avons déjà mentionné l'incapacité des foyers, nodules et carcinomes de fixer le fer (cette caractéristique s'est d'ailleurs révélée très utile pour la détection de ces lésions à l'examen histologique). Mais il existe d'autres paramètres, plasmatiques, d'exploration plus facile et dont les variations semblent également aller de pair avec les modifications cellulaires inhérentes à l'action cancérogène des produits testés.

Parmi les paramètres mesurés, la Gamma Glutamyl transpeptidase (GGT) et l'Aldolase semblent manifester les variations les plus importantes. Viennent ensuite les phosphatases alcalines, les triglycérides et le cholestérol quant aux protéines totales et aux autres enzymes leur taux n'a semble-t'il pas été perturbé.

Nous allons donc nous intéresser aux différents paramètres plasmatiques qui ont subi des variations en essayant d'en déduire une signification.

A - LA GAMMA GLUTAMYL TRANSPEPTIDASE - (GGT)

1 - Généralités

Cette enzyme est normalement absente dans le foie de rat adulte, mais présente dans le foie du rat foetal (4). Elle traduit la présence de cellules jeunes à caractère totipotent, et sera donc le reflet de toute dédifférenciation cellulaire, première manifestation d'un processus cancéreux (13-19).

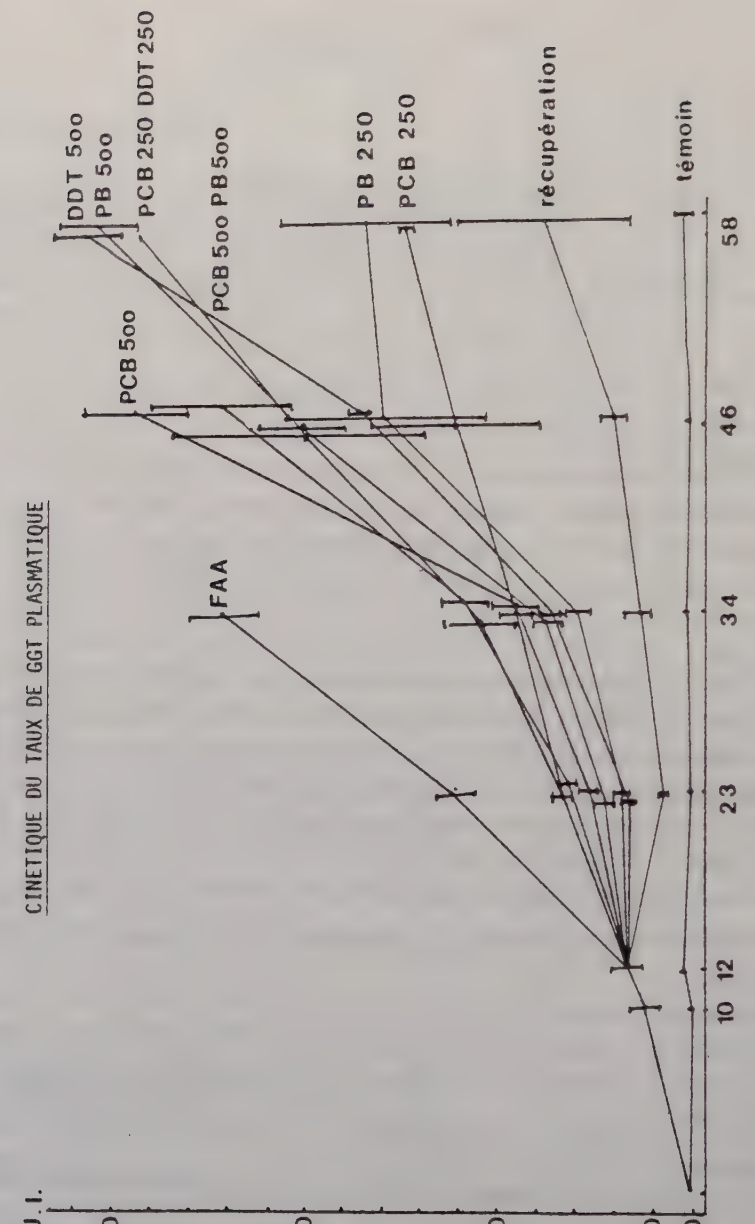
TABLEAU V : GGT PLASMATIQUE

Lot	Traitement	14 animaux par lots					5 animaux par lots	
		A.T.	10 sem.	12 sem.	23 sem.	34 sem.	46 sem.	58 sem.
Tém.	-	1 (0,2)	0 (0,1)	2 (0,7)	0 (0,1)	1 (0,1)	0 (0)	2 (1)
I a	FAA 4 sem.	1 (0,3)						
b	FAA 6 sem.	1 (0,5)						
c	FAA 8 sem.	1 (0,2)						
II	Récupération	1 (0,2)	12 (1,3)	17 (1,7)	7 (1)	13 (3,4)	19 (5,1)	37 (21,8)
III	FAA	1 (0,2)	14 (2,9)	18 (2,5)	62 (4,6)	122 (7,6)	+	+
IV	PB250 ppm	1 (0,2)	13 (1,7)	19 (2,2)	18 (2,1)	29 (3,2)	79 (2,6)	84 (21,9)
V	PB500 ppm	1 (0,2)	14 (2,1)	20 (2,8)	22 (2,8)	37 (3,4)	102(12,6)	154(10,2)
VI	PCB250 ppm	1 (0,2)	11 (1,4)	16 (2,1)	33 (2,6)	45 (4,4)	61(21,7)	74 (1,5)
VII	PCB500 ppm	1 (0,3)	9 (1,4)	14 (2)	25 (2,6)	45 (6)	144(13,3)	+
VIII	PCB500 ppm + PB500 ppm	1 (0,2	10 (1,2)	17 (1,8)	32 (2,1)	58 (6)	121(18)	+
IX	DDT500 ppm	1 (0,2)	9 (0,6)	15 (1,2)	17 (1,5)	36 (3,6)	86(3,1)	159 (9,6)
X	DDT250 ppm + PCB250 ppm	1 (0,1)	10 (1,2)	17 (1,7)	33 (2,3)	54 (9,2)	101(32,5)	142 (0)

+ Mort
N moyenne du lot
(N) écart type

FIGURE IV

CINETIQUE DU TAUX DE GGT PLASMATIQUE



2 - Analyse des résultats (cf. tableau V et fig.IV)

. Dès l'arrêt de la phase d'initiation par le FAA (résultats obtenus à la 10ème semaine) on constate un taux de GGT plasmatique relativement élevé chez les animaux traités par rapport, d'une part aux animaux témoins et, d'autre part, au taux de GGT mesuré chez ces mêmes animaux avant traitement

. Le taux de GGT augmente encore légèrement jusqu'à 12 semaines, date à laquelle vont commencer les différents traitements

. Par la suite
- Le lot II (Récupération) voit son taux de GGT diminuer de façon assez nette mais incomplète au cours des premières semaines (résultats obtenus à la 23ème semaine) pour ensuite augmenter légèrement au cours des semaines suivantes (34ème, 46ème et 58ème semaines).
- Avec le FAA (lot III) le taux de GGT augmente fortement atteignant plus de 100 ui/litre à la 34ème semaine, date du dernier prélèvement avant la mort de tous les animaux de ce lot.
- Quant aux autres lots soumis aux différents promoteurs (lots IV à X) leurs taux de GGT se situent en positions intermédiaires entre les taux atteints avec le FAA et ceux atteints dans le lot II (Récupération) avec à chaque période des différences significatives par rapport à ces 2 lots.

  + A la 23ème semaine, l'éventail des valeurs du taux de GGT de ces différents lots est relativement serré et il s'élargit par la suite aux semaines 34 et 46

  + Aux semaines 46 et 58 les résultats obtenus , portant sur un nombre réduit d'animaux (5 animaux au maximum par lot) ne pourront être pris en considération qu'avec précaution. En effet, la moindre variation individuelle du taux de GGT entraine des modifications importantes de la valeur moyenne attribuée à chaque lot (ce qui explique les grands écarts types obtenus à ces dates là).

D'autre part, cette moyenne apparaît faussée pour les lots chez lesquels le traitement a entrainé la mort de certains animaux : les résultats obtenus ne tiennent alors plus compte que des animaux les moins atteints, puisque seuls survivants.

+ L'allure générale des courbes montre cependant :

. une augmentation du taux de GGT plus importante dans les lots VII (PCB500) VIII (PCB500 + PB500) et X (PCB250 + DDT250) que dans les autres lots,

. Des variations du taux de GGT qui semblent se superposer dans les lots IV (PB250) V (PB500) et IX (DDT500) avec tout de même une augmentation plus marquée pour le lot V.

. Un taux de GGT dans le lot VI (PCB250) qui évolue de façon différente comparativement aux autres lots. En effet, assez élevé au début (36ème semaine) il augmente ensuite beaucoup moins rapidement que dans les autres lots.

B - ALDOLASE

1 - Généralités

Parmi les enzymes circulantes synthétisées par le tissu hépatique, l'aldolase sérique peut se révéler un bon marqueur de l'atteinte hépatocytaire (2 - 21).

Son dosage concerne cependant trois types d'aldolase : l'aldolase A d'origine musculaire, l'aldolase B plus spécifique du foie et l'aldolase C que l'on retrouve dans le cerveau, hybridée avec l'aldolase A.

Dans le foie de rat adulte, seule l'aldolase B est présente, alors que les 3 types existent durant la vie foetale. Or la réapparition des aldolases A et C au côté de l'aldolase B a été constatée (9) lors de cancérogénèse hépatique, le dosage effectué portera donc sur ces 2 types d'aldolase plus active sur le fructose 1 6 diphosphate.

2 - Analyse des résultats (cf. tableau VI - fig. V)

Remarque
Du fait d'un retard dans la livraison des réactifs nécessaires au dosage de l'aldolase, celui-ci n'a pu être mis en place qu'à partir de la 12ème semaine.

Le taux plasmatique de cet enzyme n'apparaît augmenté de façon significative par rapport aux témoins, que dans certains lots et à certaines époques. En effet :

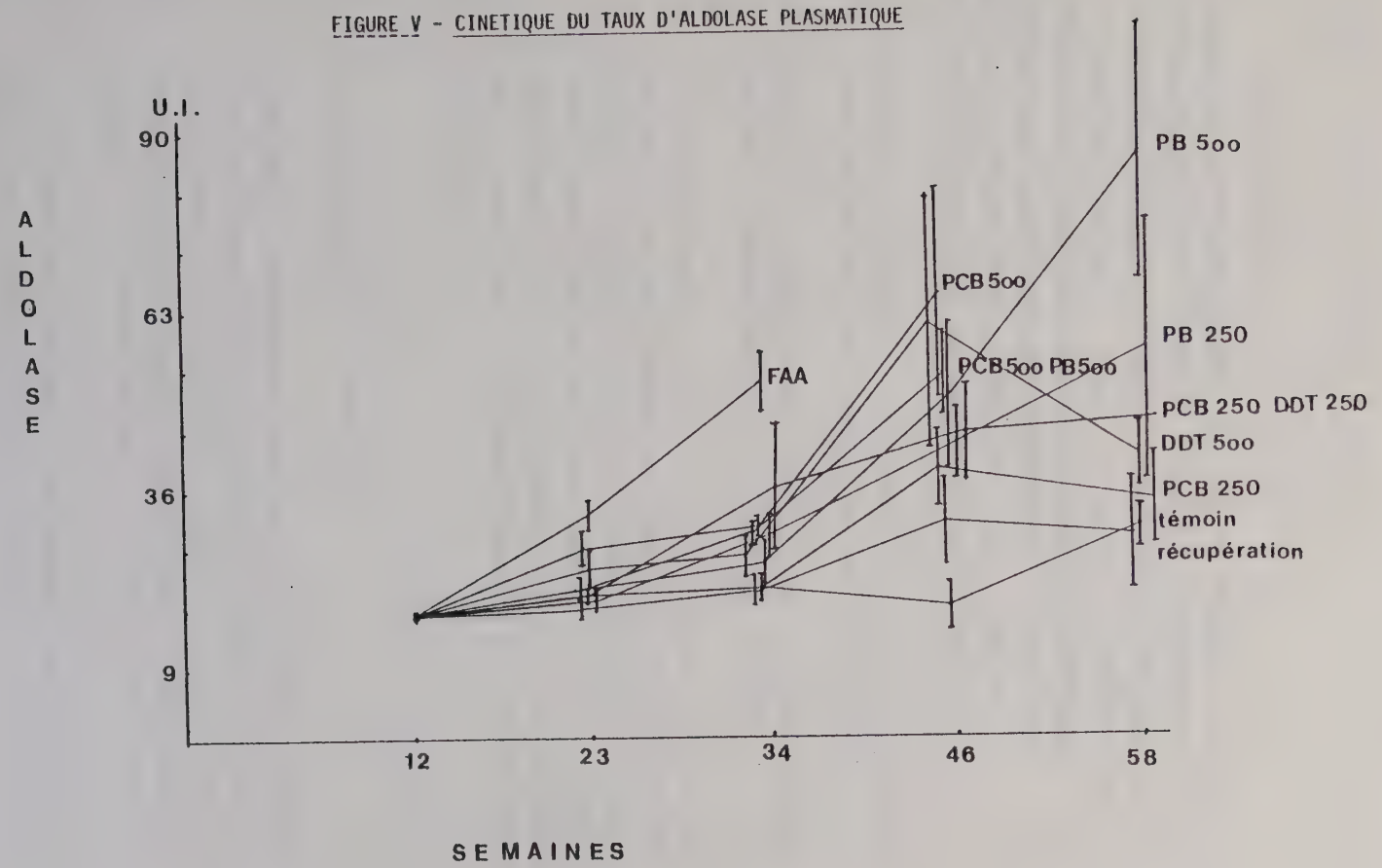
- quelque soit l'époque, les valeurs obtenues dans le lot II (Récupération) ne sont jamais significativement différentes de celles obtenues dans le lot témoin
- à la troisième semaine, seuls les lots III (FAA) et à un degré moindre le lot VII (PCB500) présentent une différence significative par rapport aux témoins.

TABLEAU VI : ALDOLASE

Lot	Traitement	14 animaux par lots			5 animaux par lots	
		12 sem.	23 sem.	34 sem.	46 sem.	58 sem.
Témoin	-	17 (0,6)	20 (1,1)	21 (2)	18 (3,6)	30 (3,3)
I	Initiation	-	-	-	-	-
II	Récupération	20 (2,1)	18 (1,1)	21 (2,7)	31 (6,5)	29 (8,4)
III	FAA	17 (0,9)	32 (2,2)**	52 (4,5)**	+	+
IV	PB250 ppm	17 (1)	19 (1,6)	29 (3,4)	43 (5,4)**	57 (19,4)
V	PB500 ppm	15 (0,5)	21 (1,4)	25 (3,9)	50 (10,8)	86 (19)
VI	PCB250 ppm	19 (1,5)	20 (0,8)	20 (0,8)	39 (5,7)**	34 (7)
VII	PCB500 ppm	16 (1)	27 (2,6)**	30 (1,6)**	65 (15,8)**	+
VIII	PCB500 + PB500	16 (0,7)	21 (1)	29 (1,8)**	53 (6)**	+
IX	DDT500 ppm	17 (1,4)	24 (3)	26 (3,1)	61 (18,7)	41 (5)
X	DDT250 + PCB250	14 (0,7)	19 (0,8)	36 (9,4)	44 (7,1)*	46 (0)

\+ Mort
* Différence significative à $p < 0,05$ par rapport au lot témoin
** Différence significative à $p < 0,01$ par rapport au lot témoin
N Moyenne du lot
(N) Ecart type

FIGURE V - CINETIQUE DU TAUX D'ALDOLASE PLASMATIQUE



. à la troisième semaine, les observations pour ces 2 lots se trouvent confirmées et le lot VIII (PCB500 + PB500) présente également une différence significative sensiblement analogue à celle du lot VII (PCB500)
. Aux semaines 46 et 58, compte tenu des mêmes réserves qu'avec la GGT, quant à l'interprétation des résultats, l'accroissement du taux d'aldolase, tout en n'étant pas toujours significatif par rapport au lot témoin, semble toutefois manifeste pour la plupart des lots.

C - AUTRES PARAMETRES BIOCHIMIQUES PLASMATIQUES

1 - Les phosphatases alcalines (cf. tableau VII)

- Quelque soit le lot observé on constate une diminution de leur taux plasmatique au fur et à mesure du vieillissement des animaux.
- Les autres variations observées entre chaque lot aux mêmes époques apparaissent minimes et ne semblent pas être le reflet du processus cancéreux, d'autant qu'elles ne permettent pas de différencier les lots soumis aux différents traitements.

2 - Les triglycérides (cf. tableau VIII)

Ce paramètre plasmatique subit également des variations, cependant, à l'analyse des résultats 2 constations peuvent être faites :

- même au sein du seul lot témoin le taux des triglycérides obtenu lors des différents prélèvements a subi des variations

- au niveau des autres lots des variations beaucoup plus importantes que dans le lot témoin peuvent cependant être mises en évidence : en effet, on constate un taux de triglycérides très élevé juste après la phase d'initiation (10ème semaine) puis le taux diminue régulièrement au cours des prélèvements suivants dans tous les lots. Mais, là aussi, aucune différence n'apparaît entre les divers lots traités.

3 - Cholestérol total (cf. tableau IX)

Comme pour les phosphatases alcalines, on constate des variations au fur et à mesure du vieillissement des animaux : en effet, le taux plasmatique du cholestérol augmente dans tous les lots au cours des différents prélèvements. Cependant, cette augmentation est nettement plus marquée dans les lots traités en fin d'étude.

Si elle peut être rattachée au développement des nodules et carcinomes elle n'est pas spécifique puisqu'elle peut être mise en évidence lors de toute atteinte hépatique.

TABLEAU VII - PHOSPHATASES ALCALINES

Lot	traitement	A.T.	10 sem.	12 sem.	23 sem.	34 sem.	46 sem.	58 sem.
témoin	-	755 (17,5)	281 (8)	265 (9,5)	174 (3,1)	164 (5,4)	138 (5,9)	148 (9,1)
I	Initiation	714 (30)						
II	Récupération	705 (30,6)	374 (18,9)	328 (15)	195 (4)	231 (67,3)	162 (23,5)	234 (96)
III	FAA	684 (23,3)	362 (16,7)	326 (13,5)	306 (13,6)	341 (17,8)		
IV	PB250	681 (23,4)	362 (12,4)	309 (12)	168 (4,8)	160 (6,7)	199 (19,8)	262 (43,4)
V	PB500	717 (18,3)	375 (10,5)	292 (13,4)	163 (7,2)	154 (5,5)	191 (10,4)	245 (9,8)
VI	PCB250	718 (21,3)	368 (16,7)	322 (22)	153 (5,3)	157 (8,5)	122 (10)	147 (5)
VII	PCB500	707 (28,4)	388 (12)	321 (13,9)	187 (11)	210 (11)	278 (24,1)	
VIII	PB500 PCB500	738 (24,7)	363 (10,7)	336 (13,3)	211 (5,9)	259 (17,3)	217 (48)	
IX	DDT500	727 (29)	383 (11,6)	348 (12,9)	158 (5)	156 (5,1)	166 (4,6)	201 (23,3)
X	PCB250 DDT250	726 (14,1)	345 (17,8)	380 (12,4)	167 (7,5)	171 (13,1)	152 (8)	157 (0)

N = Moyenne du lot

(N) = Ecart type

TABLEAU VIII - TRIGLYCERIDES

Lot	traitement	A.T.	10 sem.	12 sem.	23 sem.	34 sem.	46 sem.	58 sem.
témoin	-	1,16 (0,052)	0,79 (0,052)	0,87 (0,061)	1,57 (0,114)	1,25 (0,075)	1,61 (0,092)	1,55 (0,13)
I	Initiation	-	-	-	-	-	-	-
II	Récupération	1,25 (0,076)	1,66 •• (0,07)	0,8 (0,41)	1,36 (0,067)	1 • (0,069)	1,31 (0,125)	0,96 (0,127)
III	FAA	1,21 (0,089)	1,66 •• (0,042)	0,59 •• (0,031)	1,44 (0,11)	0,95 • (0,064)		
IV	PB250	1,13 (0,066)	1,68 •• (0,068)	0,58 •• (0,035)	0,77 •• (0,055)	0,63 •• (0,034)	1,08 • (0,12)	0,68 •• (0,037)
V	PB500	1,05 (0,057)	1,41 •• (0,042)	0,57 •• (0,04)	0,62 •• (0,033)	0,66 •• (0,034)	0,65 •• (0,064)	0,53 •• (0,057)
VI	PCB250	1,21 (0,067)	1,56 •• (0,073)	0,81 (0,05)	0,51 •• (0,035)	0,51 •• (0,035)	0,41 •• (0,017)	0,38 •• (0,03)
VII	PCB500	1,17 (0,067)	1,36 •• (0,077)	0,61 • (0,056)	0,45 •• (0,017)	0,48 •• (0,014)	0,47 •• (0,038)	
VIII	PB500 PCB500	1,26 (0,062)	1,66 •• (0,085)	0,8 (0,057)	0,42 •• (0,021)	0,48 •• (0,019)	0,47 •• (0,056	
IX	DDT500	1,27 (0,082)	1,45 •• (0,062)	0,8 (0,051)	0,56 •• (0,027)	0,5 •• (0,028)	0,48 •• (0,027)	0,43 •• (0,038)
X	PCB250 DDT250	1,22 (0,075)	1,47 •• (0,066)	0,71 (0,057)	0,54 •• (0,021	0,49 •• (0,022)	0,27 •• (0,028)	0,38 •• (0)

•• significativement supérieur au lot témoin à p 0,01

•• significativement inférieur au lot témoin à p 0,01

• significativement inférieur au lot témoin à p 0,05

N = Moyenne

(N) = Ecart type

TABLEAU IX - CHOLESTEROL TOTAL

Lot	traitement	A.T.	10 sem.	12 sem.	23 sem.	34 sem.	46 sem.	58 sem.
témoin	-	0,39 (0,02)	0,32 (0,041)	0,36 (0,012)	0,41 (0,013)	0,45 (0,012	1,25 (0,027)	1,41 (0,062)
I	Initiation	0,46 (0,027)	-	-	-	-	-	-
II	Récupération	0,47 ** (0,016)	0,44 * (0,016)	0,53 ** (0,019)	0,48 * (0,023)	0,56 ** (0,033)	1,49 (0,166)	1,51 (0,184)
III	FAA	0,47 ** (0,02)	0,44 * (0,021)	0,55 ** (0,023)	1,08 ** (0,38)	1,22 ** (0,076)		
IV	PB250	0,44 (0,019)	0,46 * (0,015)	0,55 ** (0,016)	0,69 ** (0,031)	0,57 ** (0,022)	1,71 * (0,07)	2,11 * (0,155)
V	PB500	0,41 (0,02)	0,42 (0,22)	0,61 ** (0,03)	0,69 ** (0,03)	0,72 ** (0,035)	1,72 * (0,066)	1,99 * (0,047)
VI	PCB250	42 (0,022)	0,45 * (0,023)	0,53 ** (0,013)	1,31 ** (0,038)	1,33 ** (0,049)	2,16 * (0,055)	2,6 * (0,295)
VII	PCB500	0,44 (0,024)	0,37 (0,016)	0,5 ** (0,015)	1,18 ** (0,024)	1,43 ** (0,052)	2,51 * (0,486)	
VIII	PB500 PCB500	0,41 (0,019)	0,36 (0,024)	0,5 ** (0,02)	1,12 ** (0,046)	1,35 ** (0,58)	2,04 * (0,16)	
IX	DDT500	0,41 (0,023)	0,22 (0,013)	0,47 ** (0,016)	0,69 ** (0,021)	0,86 ** (0,031)	1,93 * (0,089)	1,86 (0,387)
X	PCB250 DDT250	0,39 (0,025)	0,41 (0,039)	0,55 ** (0,031)	1,45 ** (0,088)	1,6 ** (0,144)	2,47 ** (0,44)	3,91 0

* significativement différent du lot témoin à $p < 0,05$

** significativement différent du lot témoin à $p < 0,01$

D - DISCUSSION DES RESULTATS BIOCHIMIQUES

Les variations des taux de phosphatases alcalines, de triglycérides et de cholestérol n'apparaissent qu'être le reflet d'un vieillissement des animaux ou d'une atteinte hépatique non spécifique du processus cancéreux. Par contre, la GGT et l'aldolase dont les taux paraissent avoir augmenté parallèlement aux lésions observées, se révèlent être de bons marqueurs du processus tumoral.

L'étude des corrélations existant entre les lésions observées et les taux sériques de ces deux enzymes va nous permettre d'affiner ces observations.

III - CORRELATIONS ENTRE LES RESULTATS ANATOMOPATHOLOGIQUES ET LES RESULTATS BIOCHIMIQUES

Le tableau suivant indique les coefficients de corrélation obtenus à partir des valeurs individuelles, entre les lésions anatomopathologiques observées (foyers, nodules et carcinomes) et les taux de GGT et d'aldolase obtenus lors du dernier prélèvement précédant la mort de l'animal.

	Foyers	Nodules	Carcinomes	G G T	Aldolase
Foyers	1				
Nodules	-	1			
Carcinomes	-		1		
G G T	0,307	0,407	0.665	1	
Aldolase	0,024	0,136	0,574	0,608	1

Ce tableau montre donc une corrélation hautement significative ($p < 0,01$) entre : GGT et aldolase
carcinomes et GGT
carcinomes et aldolase
nodules et GGT
et à un degré moindre : foyer et GGT
alors que les corrélations : foyers - aldolase
nodules aldolase sont mauvaises

Si maintenant l'on ne tient compte que des animaux ne présentant pas de carcinome au moment de leur mort (autrement dit chez qui le carcinome ne s'est pas encore développé) les coefficients de corrélation apparaissent modifiés (cf. tableau X)

TABLEAU X

	Foyers	Nodules
G G T	0,610	0,402
Aldolase	- 0,021	0,130

La GGT se trouve beaucoup mieux corrélée avec les foyers, tout en gardant une bonne corrélation avec les nodules. Ceci montre que la présence de carcinome, surtout si celui-ci est bien développé, enlève toute signification aux foyers, dont le nombre n'est alors plus le reflet de l'intensité du pouvoir cancérogène du produit testé.

L'analyse de ces deux tableaux permet d'autre part d'apprécier l'aptitude de ces deux enzymes à marquer le processus de cancérogénèse hépatique.

En effet, la GGT, dont le taux sérique augmente dès l'apparition des premiers foyers et nodules, se révèle être un très bon marqueur du phénomène précancéreux et cancéreux dans son ensemble.

La forte corrélation obtenue avec les foyers et les nodules avant l'apparition de carcinome et avec les carcinomes dès que ceux-ci apparaissent le prouve.

Ceci se trouve également confirmé d'une part, par de nombreuses études similaires (4 - 13 - 27) pour lesquelles la présence de foyers et nodules s'est trouvée être très bien corrélée avec la GGT, tant plasmatique qu'hépatique et d'autre part, par des études histoenzymologiques (4 - 7 - 13 - 19 - 26) qui ont permis de mettre en évidence la présence de GGT au niveau de ces lésions.

Quant à l'aldolase, elle ne se révèle qu'un marqueur tardif du processus cancéreux. En effet son taux sérique (fig. VI) n'augmente de façon significative que dans certains lots et qu'à partir des semaines 23 et 36 (date d'apparition des premiers carcinomes dans ces lots). De plus elle ne se trouve bien corrélée qu'avec les carcinomes.

CONCLUSION

Il est maintenant admis qu'un cancérogène génotoxique provoque l'apparition de " foyers d'altérations cellulaires " dans le foie du Rat. De même, son action prolongée ou celle d'un promoteur entraînerait le développement de " Nodules néoplasiques " puis de " carcinomes".

Cette interprétation de la pathogénie du processus cancéreux s'applique aux cancérogènes chimiques et permet donc de les mettre en évidence au cours de test à moyen terme. Cependant, une durée de 20 à 30 semaines apparaît optimale pour ce genre de test ; en effet elle favorise l'apparition de "foyers d'altérations cellulaires" et leur évolution en "nodules néoplasiques" sans laisser le temps aux carcinomes de se développer. Ceux-ci, très vite envahissants, ne gènent donc pas l'appréciation du nombre de foyers et nodules qui suffit largement à évaluer l'intensité d'action d'un cancérogène.

Ce délai, de plus, est suffisamment court pour éviter le réveil des lésions néoplasiques chez les animaux soumis à la Récupération.

D'autre part, les très bonnes corrélations obtenues entre les résultats anatomopathologiques et les résultats biochimiques montrent que la GGT et l'aldolase sont d'excellents marqueurs du processus cancéreux. Elles ne doivent cependant pas se substituer aux observations histologiques qui restent en fait le seul véritable témoin du phénomène cancéreux. Mais grâce au bon reflet de l'évolution néoplasique qu'elles donnent, leur dosage effectué de façon systématique en cours d'étude doit permettre d'éviter l'utilisation très lourde de sacrifices échelonnés.

Cette étude nous a en outre permis de constater que le Phénobarbital et le DDT présentaient une action sensiblement voisine et conforme aux données rapportées dans la littérature. Ces deux promoteurs actuellement bien connus peuvent donc d'ores et déjà, être utilisés comme témoins positifs dans des études similaires. Il n'en est pas de même pour le PCB dont le comportement différent suggère une action initiatrice que des études ultérieures pourront préciser.

VU : le Professeur de l'Ecole Vétérinaire
Rapporteur
Pr. G. VAN HAVERBEKE

VU : le Directeur de l'Ecole Vétérinaire
Pr. R.LAUTIE

VU : Le Président de la Thèse
Pr. RIBET

VU et PERMIS D'IMPRIMER
Toulouse, le 4-5-1982
Le Président de l'Université Paul Sabatier

Professeur D. BANCEL

BIBLIOGRAPHIE

1 - AMES A.W. - Mc CANN J. - YAMASAKI E.
Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/ mammalian-microsome , mutagenicity test

2 - BOULANGER P. - POLONOVSKI J. - TAYEAU F. - MANDEL P. - BISERTE G.
Biochimie médicale Fascicule III : Sang, tumeurs, tissus et organes
Edit. Masson et Cie (1971) 110-112

3 - BUREK J.D.
Pathology of aging rats
C.R.C. Press (1978) p. 62

4 - CAMERON R. - KELLEN J. - KOLIN A. - MALKIN A. - FARBER E.
Gamma-glutamyl transpeptidase in putative premalignant liver cell populations during hepatocarcinogenesis
Cancer Research 38 - 823-829 (1978)

5 - FARBER E. - PARKER S. - GRUENSTEIN M.
The resistance of putative premalignant liver cell populations, hyperplastic nodules, to the acute cytotoxic effects of some hepatocarcinogens
Cancer Research 36 - 3879-3887 (1976)

6 - FERON V.J. - GRICE M.C. - GRIESEMER R. - PETO R.
Basic requirements for long-term assays for carcinogenicity in long-term and short-term screening assays for carcinogens : A critical appraisal
I.A.R.C. Monographs supplement 2, Lyon (1980)

7 - GOLDFARB - PUGH T.
Enzyme histochemical phenotypes in primary hepatocellular carcinomas
Cancer Research (1981) - 41 - 2092 - 2095

8 - GOODMAN D.G. - WARD J.M. - SQUIRE R.A. - CHU K.C. - LINHART M.S.
Neoplastic and non neoplastic lesions in aging F 344 Rats
Toxicology and applied pharmacology 48 - 237 -248 (1979)

9 - HATZFELD A. - WEBER A. - SHAPIRA F.
Biochemical and Immunological Studies of some carcinofetal enzymes
Annals of the New York Academy of Science
Carcinofetal proteins : Biology and Chemistry Vol. 259 - 287-297 (1975)

10 - HISTOLOGIC TYPING OF LIVER TUMORS OF THE RAT
Institute of Laboratory Animal resources
National Research Concil
National Academy of Science
Washington D.C.
J. Nat. Cancer Inst. Vol 64 - n° 1 - 179-206 (1980)

11 - ITO N. - NAGASAKI H. - MAKIURA S. - ARAI M.
Histopathological studies on liver tumorogenesis in rats treated with polychlorinated biphenyls
Gann 65 - 545-549 (1974)

12 - KIMURA N.T. - BABA T.
Neoplastic changes in the rat liver induced by polychlorinated biphenyl
Gann 64 - 105-108 (1973)

13 - LAISHES B.A. - OGAWA K. - ROBERTS E. - FARBER E.
Gamma glutamyl transpeptidase : a positive marker for cultured rat liver cells derived from putative premalignant and malignant lesions
J. Nat. Cancer. Inst. Vol 60 n° 5 - 1009-1016 (1978)

14 - LITTLEFIELD N.A. - FARMER J.A. - GAYLOR D.W.
Effects of dose and time in a long term, low dose carcinogenic study
J. Of. Environmental path. and Tox. 17-34 - (1979)

15 - LOEVENSTEIN W.R.
Junctional intercellular communication and the control of growth
Biochemica and Biophysica Acta 560 - 1-69 (1979)

16 - MAZET F. - ENRHART J.C.
Importance physiologique des Jonctions Communicantes
J. Physiol. Paris - 76 - 529-549 (1980)

17 - MORI H. - TANAKA T. - NISHIKAWA A. - TAKAHASHI M. - WILLIAMS G.M.
Enhancing effect of barbital on N2 Fluorenylacetamide-induced rat lever lesions
Gann 72 - 789-801 (1981)

18 - NAGASAKI H. - TOMII S. - MEGA T. - MARUGAMI M. - ITO N.
Hepatocarcinogenicity of polychlorinated biphenyls in mice
Gann 63 - p.805 (1972)

19 - OGAWA K. - SOLT D.B. - FARBER E.
Phenotypic diversity as an early property of putative preneoplastic hepatocyte populations in liver carcinogenesis
Canc. Research, 40, 725-733 (1980)

20 - OLIVE G.
Recommandations des autorités de tutelle concernant les études de cancérogénèse et de mutagénèse
Tests courts de cancérogénèse : QUO VADIS ? 5-6 février 1981
Centre de Recherches Clin Midy - Montpellier

21 - PAVEL I. - CAMPEANU S.
Physiopathologie des Ictères
Edit. Masson et Cie 143-144 (1970)

22 - PERAINO C. - FRY R.J.M. - STAFFELDT E.F.
Effects of varying the onset and duration of exposure to phenobarbital on its enhancement of 2 Acetylaminofluorène-induced hepatic tumorigenesis
Cancer Research 37. 3623-3627 (1977)

23 - PERAINO C. - STAFFELDT E.F. - MAUGEN D.A. - LOMBARD L.S. - STEVENS F.J. - FRY R.J.M.
Effects of vayring the dictary concentration of phenobarbital on its enhancement of 2 - Acetylaminofluorène - induced hepatic tumorigenesis
Cancer Research 40 3268-3273 (1980)

24 - PHARMACEUTICAL MANUFACTURERS ASSOCIATION
Guideliness for the assessment of drug and medical device safety in animals - Fevruary 1977

25 - Proposition de Directive du Conseil des Communautés Européennes concernant le rapprochement des dispositions législatives, règlementaires et administratives relatives aux spécialités pharmaceutiques
J.O. des Communautés Européennes n° C355 1.28 (31.12.1980)

26 - PUGH T.D. - GOLDFARB S.
Quantitative histochemical and autoradiographic studies of hepatocarcinogenesis in rats fed 2-Acetylaminofluorène followed by phenobarbital
Cancer Research 38, 4450-4457 (1978)

27 - REMANDET B.
Les benzodiazepines sont-elles carcinogènes ?
Etude chez le rat par des tests de carcinogénèse à moyen terme
Thèse de Doctorat Vétérinaire (1980) Toulouse

28 - REUBER M.D.
Development of preneoplastic and neoplastic lesions of the liver in male rats given 0,025 per cent N-2-Fluorenylacetamide
J.Nat. Cancer Inst. Vol 34, n° 6, 697-723 (1965)

29 - SCHAUER A. - KUNZE E.
Tumors of the liver in : Pathology of tumor in Laboratory animals
Vol. 1 part. II - Turusov Ed; IARC (1979)
Scientific publication Lyon 41-72

30 - SELLS M.A. - KATYAL S.L. - SHINOSUKA H. - ESTER L.W. - SELL J. - LOMBARDI B.
Isolation of oval cells and transitional cells from the livers of rats fed the carcinogen DL - Ethionine
J. Nat. Cancer Inst. Vol. 66, n° 2, 355-362 (1981)

31 - SHIMADA T. - KREISER D.M. - WILLIAMS G.M.
Effect of the tumor promoter phenobarbital on membrane mediated properties of adult rat liver derived epthelial cells in culture
In Vitro 17 - 224 (1981)

32 - SQUIRE R.A. - LEWITT M.H.
Report of workshop on classification of specific hepatocellular lesions in rats
Cancer Research 35, 3214-3223 (1975)

33 - TATEMATSU M. - MURASAKI G. - NAKANISHI K. - MIYATA Y. - SHINOHARA Y. ITO N.
Sequential quantitative studies on hyperplastic nodules in the liver of rats treated with carcinogenic chemicals
Gann 70, 125-130 (1979)

34 - TATEMATSU M. - SHIRAI I. - TSUDA H. - MIYATA Y. - SHINOHARA Y. - ITO N.
Rapid production of hyperplastic liver nodules in rats treated with carcinogenic chemicals : a new approach for an in vivo short-term screening test for hepatocarcinogens
Gann 68, 499-507 (1977)

35 - THERET C.G.
Contribution à l'étude des premeirs stades de la cancérisation expérimenta de la cellule hépatique - Thèse Doct. ès Sc. Paris (1961)

36 - WATANABE K. - WILLIAMS G.M.
Enhancement of rat hepatocellular altered foci by liver promoter phenobarbital : evidence that foci are precursors of neoplasms and that the promoter acts on carcinogen induced lesions
J. Nat. Cancer. Inst. Vol 61, n° 5, 1311-1314 (1978)

37 - WEISBURGER J.M. - WILLIAMS G.M.
Carcinogen testing : curent problems and new approaches
Science 214, 401-407 (1981)

38 - WEISBURGER J.M. - WILLIAMS G.M.
Chemical carcinogens in : Casarett and Doull's toxicology
Second edition chap. 6, 84-138 (1980)

39 - WILLIAMS G.M.
Liver carcinogenesis : the role for some chemicals of an epigenetic mecanism of liver tumor promotion in volving modification of cell membrane
Food and Cosmetic Toxicology 19, 577-583 (1981)

40 - WILLIAMS G.M.
The detection of chemical mutagens and carcinogens by DNA repair and mutagenesis in liver cultures
Chemical Mutagens : Principles and methods for their detection
Vol. 6 New York, Plenum Press (1980)

41 - WILLIAMS G.M. - TELANG S. - TONG C.
Inhibition of intercellular communication between liver cells by the promoter 1,1,1 Trichloro 2,2 bis (p chlorophenyl) ethane
Cancer letters 11, 339-341 (1981)

42 - WILLIAMS G.M. - WATANABE K.
Quantitative kineties of development of N-2-Fluorenylacetamide-induced, altered (hyperplastic) hepatocellular foci resistant to iron accumulation and their reversion of persistant following removal of carcinogen
J. Nat. Cancer. Inst. Vol 61, n° 1, 113-121 (1978)

43 - WORLD HEALTH ORGANISATION
Principles for the testing and evaluation of drugs for carcinogenicity
Who. Tech. Rep. Ser. n° 426 Geneva